

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. LYON-NORD

Année 1977 - N° 41

**LES ANTIGENES
ASSOCIES AUX LEUCEMIES HUMAINES :
TENTATIVE DE DEFINITION SEROLOGIQUE
A L'AIDE DE SERUMS HUMAINS.**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 27 Janvier 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Jacques Henri BERTOGLIO MATTE

né le 20 Avril 1951

à SAINT-ETIENNE (Loire)

29

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. LYON-NORD

Année 1977 - N° 41

**LES ANTIGENES
ASSOCIES AUX LEUCEMIES HUMAINES :
TENTATIVE DE DEFINITION SEROLOGIQUE
A L'AIDE DE SERUMS HUMAINS.**



THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 27 Janvier 1977
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Jacques Henri BERTOGLIO MATTE

né le 20 Avril 1951

à SAINT-ETIENNE (Loire)

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON

- MÉDECINE -

U. E. R. LYON-NORD

Année 1977 - N° 41

LES ANTIGÈNES
ASSOCIÉS AUX LEUCEMIES HUMAINES :
TENTATIVE DE DÉFINITION SÉROLOGIQUE
À L'AIDE DE SÉRUMS HUMAINS



THÈSE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 27 janvier 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Jacques Henri BERTOGGIO MATTE

né le 20 Avril 1937

à SAINT-ETIENNE (Loire)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I
U.E.R. MEDECINE LYON NORD

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE : Professeur D.GERMAIN

Premier Vice-Président : Professeur E.ELBAZ

Secrétaire Général : M. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHES DE L'UNIVERSITE

MEDECINE Grange-Blanche : Directeur : Docteur SALLE (M.C.A.)
Alexis-Carrel : Directeur : Professeur C. GIROD
Sud-Ouest : Directeur : Professeur J. ROBERT
Lyon-Nord : Directeur : Professeur J.P. GARIN
Directeur honoraire : Professeur A. BERTOYE

BIOLOGIE HUMAINE : Directeur : Professeur J.C. CZYBA

TECHNIQUES DE READAPTATION : Directeur : Docteur A. MORGON (M.C.A.)

SCIENCES PHARMACEUTIQUES : Directeur : Professeur ODDOUX

SCIENCES ODONTOLOGIQUES : Directeur : Docteur R.VINCENT

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :

Président du Conseil de l'U.E.R.: Professeur R.GUILLET
Directeur : M. MILLON

MATHEMATIQUES : Directeur : Professeur BUCHWALTER

PHYSIQUE : Directeur : Professeur R. UZAN

CHIMIE et BIOCHIMIE : Directeur : Professeur J. HUET

SCIENCES DE LA NATURE : Directeur : Professeur J. BRUN

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES : Directeur : M. FONTANGES R. (M.C.A.)

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 1 : Directeur : Professeur POUYET B.

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 2 : Directeur : J. GALLET
Directeur E.N.S.A.M.

OBSERVATOIRE : Directeur : Professeur BIGAY J.H.

PHYSIQUE NUCLEAIRE : Directeur : Professeur SARAZIN A.

MECANIQUE : Directeur : Professeur MATHIEU J.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553606_0033

A ma femme NADINE ,
en gage de mon amour.

A mes parents,
cette Thèse représente pour eux le fruit
de nombreuses années d'efforts. Puisse-t-
elle leur dire toute ma reconnaissance et
mon affection.

A ma soeur,

A toute ma famille,

A mes amis.

A notre Président de Thèse,
Monsieur le Professeur L. REVOL

Nous n'avons jamais eu la chance de
travailler à ses côtés, mais depuis
deux ans que nous fréquentons assidument
son service, nous y avons toujours été
très bien accueilli.

Nous sommes honoré qu'il ait accepté
de juger cette thèse et l'assurons de
notre profond respect.

A NOS JUGES ,

Monsieur le Professeur M.MAYER ,

Il nous a honoré de sa confiance en nous permettant d'effectuer ce travail au laboratoire d'immunologie et de cancérologie expérimentale du Centre Léon Berard. Nous n'avons jamais en vain fait appel à sa bienveillance et nous l'assurons de notre profonde gratitude.

Monsieur le Docteur J.F.DORE ,

Nous avons suivi son enseignement lors d'un certificat de biologie humaine et avons eu le plaisir de le voir devenir notre "patron"; en deux ans il a su nous apprendre le métier de chercheur.

Puisse cette thèse, qui lui doit beaucoup, resserrer les liens de respectueuse amitié qui nous unissent à lui.

Monsieur le Professeur J.P.REVILLARD ,

Nous ne connaissions de lui que l'immunologiste; au cours d'un semestre passé dans le service de Monsieur le Professeur Traeger, il nous a enseigné un peu de néphrologie.

Avec respect, nous le remercions d'avoir accepté de juger notre travail.

Monsieur le Professeur J.C.MONIER ,

Il est sans doute l'enseignant qui a le plus marqué notre "carrière" d'étudiant en nous communiquant son enthousiasme pour l'immunologie. Nous espérons qu'il acceptera encore longtemps de nous prodiguer ses conseils. Ce travail est plus ou moins la suite de son enseignement et nous le remercions d'avoir bien voulu le juger.

IN MEMORIAM,
AU DOCTEUR JEAN-JACQUES BOURGOIN,

Qui, alors que nous n'étions qu'un
tout jeune étudiant, nous avait si
chaleureusement accueilli dans son
laboratoire, et qui avait su discerner
en nous, puis cultiver une certaine
aptitude à la recherche.
Pussions nous ne pas trahir son
enseignement.

A Denis GERLIER ,

Compagnon de la première heure, tu m'as aidé à résoudre les problèmes que posaient parfois des études pas tout à fait classiques; ton esprit critique, parfois dévastateur, n'est pas une de tes moindres qualités et je souhaite pouvoir en bénéficier encore longtemps.

A Catherine GUIBOUT ,

Elle travaillait sur ce sujet bien avant nous dans l'équipe parisienne de J.F.DORE; nous avons bénéficié de son expérience et de sa collaboration. Qu'elle soit assurée de notre amitié.

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX,

M. le Professeur BERTOYE,
M. le Professeur TRAEGER,
M. le Professeur BETHENOD,
M. le Professeur JEUNE .

A tous les médecins du CENTRE LEON BERARD,
qui nous ont toujours manifesté leur amitié.

Aux techniciennes du laboratoire d'immunologie et de
cancérologie expérimentale du Centre Léon Bérard ,
Mlle C. BOUCHAREL, MMes T. AVICE, M. BAILLY, G. MERLIN et
particulièrement Mme J. GENEVE, pour leur précieuse
collaboration.

Aux chercheurs et techniciens de l'unité INSERM U.51,
avec qui nous avons souvent discuté de façon très
fructueuse, et notamment M. AUPOIX et L. GAZZOLO.

Aux Docteurs D. FIERE, G. SOUILLET, N. PHILIPPE et P. VITTOZ,
dont l'amicale collaboration a permis la réalisation de
ce travail.

- SOMMAIRE -

INTRODUCTION	2
PREMIERE PARTIE	6
I/ Production d'antisérums contre les antigènes associés aux leucémies humaines chez l'animal.....	7
II/ Réactions sérologiques contre les leucémies humaines chez l'homme.....	12
II-1/ Anticorps dirigés contre des cellules leucémiques allogéniques.....	12
II-2/ Anticorps dirigés contre des cellules leucémiques autologues.....	15
III/ Intérêt clinique de ces antisérums.....	22
III-1/ Utilisations diagnostiques.....	22
III-2/ Utilisations dans la surveillance des malades.....	22
III-3/ Tentatives d'immunothérapie passive.....	23
 DEUXIEME PARTIE	 25
I/ Matériel et méthodes.....	26
II/ Anticorps cytotoxiques pour des cellules leucémiques dans le sérum de donneurs normaux.....	28
II-1/ Circonstances de découverte de ces sérums...	28
II-2/ Renseignements concernant ces donneurs.....	29
II-3/ Etude de ces deux sérums.....	29
III/ Présence d'anticorps cytotoxiques pour des cellules leucémiques dans le sérum de parents d'enfants leucémiques.	32
IV/ Anticorps cytotoxiques pour des cellules leucémiques dans le sérum de malades atteints de leucémies aiguës.....	37

.../...

V/ Etudes sérologiques familiales dans les leucémies et lymphosarcomes.....	39
V-1/ Expression d'antigènes associés aux leucémies sur les lymphocytes d'individus normaux, parents de leucémiques.	39
V-2/ Expression d'antigènes associés aux leucémies sur les lymphocytes d'un malade avant la phase visible de sa maladie.	39
V-3/ Etude de la famille d'un enfant atteint de lymphosarcome immunoblastique.	41
V-4/ Discussion.	42
VI/ Tentative d'utilisation "in vivo" de ces antisérums à titre thérapeutique expérimental.....	45
VI-1/ Observation N° 1: Enfant MOU.....	45
VI-2/ Observation N° 2: Enfant MOR.....	47
VI-3/ Discussion.....	49
DISCUSSION	55
CONCLUSIONS	61
BIBLIOGRAPHIE	64

- ABREVIATIONS -

A.A.L.: Antigènes associés aux leucémies
L.A.L.: Leucémie aiguë lymphoblastique
L.L.C.: Leucémie lymphoïde chronique
L.A.M.: Leucémie aiguë myéloblastique
L.M.C.: Leucémie myéloïde chronique
L.M.C.-C.B.: Leucémie myéloïde chronique en crise blastique
L.A.M.M.: Leucémie aiguë myélo-monocytaire
L.S.: Lymphosarcome
Virus E.B.: Virus Epstein-Barr

- INTRODUCTION -

C'est dans le domaine de la pathologie infectieuse que les progrès de la médecine moderne ont été le plus spectaculaire. La situation est en effet favorable puisque la maladie est due à un agent extérieur qui présente une organisation et un métabolisme fondamentalement différent de ceux de son hôte, permettant l'utilisation de thérapeutiques spécifiques, dans la majorité des cas inoffensives pour l'hôte. Par contre la cancérisation d'une cellule ne semble pas induire de modification qualitative ou quantitativement suffisante pour permettre le développement de thérapeutiques sélectives.

Le système immunitaire représente dans un organisme le moyen de reconnaître de façon très sélective le "soi" du "non soi" et de réagir de façon à éliminer, ou au moins contrôler le "non soi". Si les cellules cancéreuses présentent quelques différences, même minimes, au niveau de l'organisation moléculaire de leur membrane par exemple, le système immunitaire peut fournir les moyens de les détecter et éventuellement de les utiliser à des fins thérapeutiques.

L'étude des tumeurs spontanées et induites de l'animal a montré qu'il en était le plus souvent ainsi, et que la transformation cancéreuse pouvait s'accompagner non pas d'une, mais de plusieurs modifications antigéniques simultanées au niveau de la surface cellulaire. Les antigènes tumoraux peuvent représenter soit des antigènes nouveaux, viro ou chimio-induits, soit la réexpression d'antigènes embryonnaires, soit encore l'expression anormale de structures moléculaires normales. Seuls certains de ces antigènes sont capables d'induire une réponse immune éventuellement efficace in vivo chez un hôte immuno-compétent.

Dans les leucémies humaines, l'existence d'une réaction de l'hôte contre des antigènes portés par les cellules tumorales peut être soupçonnée sur la base de plusieurs observations cliniques. D'une part des rémissions exceptionnelles ont été

observées, spontanément, ou à la suite d'infection (24). De telles rémissions ont d'autre part pu être obtenues après exsanguino-transfusion, ou même après transfusion d'un simple flacon de sang (29;13), et des rémissions à très long terme ont été observées après chimiothérapie (23). Enfin certains essais d'immunothérapie (89;102) ont fourni des résultats encourageants.

Au cours de ces dernières années, les preuves de l'existence de réactions immunitaires contre les leucémies aiguës ont été apportées par des études in vitro (38;61;109) ; cependant, les techniques utilisées pour ces études sont de valeur et de signification assez inégales et demandent donc une interprétation soigneuse. En fait, l'interprétation des réactions immunitaires dans les leucémies aiguës doit prendre en considération certaines caractéristiques inhérentes à cette maladie: les cellules leucémiques sont des cibles particulières dans les techniques immunologiques et il est difficile d'obtenir des suspensions de cellules leucémiques pures et des populations de leucocytes "normaux" d'un même malade à un moment donné de la maladie. En outre, la chimiothérapie peut entraîner chez les malades un certain degré d'immunodépression et les transfusions peuvent susciter une allo-, voire une auto-immunisation. Cependant, l'identification des antigènes associés aux leucémies humaines constitue une étape essentielle pour les études virologiques et pour une approche immunologique du traitement ou de la prévention de ces maladies.

Les expériences qui ont conduit à l'identification indiscutable des antigènes associés aux tumeurs chez l'animal ont essentiellement fait appel à des techniques de greffes de tumeurs chez des souris de lignées isogéniques (48;115;130). Ces techniques ne sont bien évidemment pas applicables chez l'homme pour d'évidentes raisons éthiques. En outre, les modèles expérimentaux ont clairement démontré que la plupart des antigènes tumoraux se comportent comme des antigènes d'histocompatibilité faibles et peuvent donc difficilement être décelés par la réponse d'un hôte porteur de tumeur.

Nous nous proposons de discuter les preuves de l'existence d'antigènes associés aux leucémies humaines et de faire

le point de l'état d'avancement des travaux visant à détecter une réaction immunitaire à ces antigènes chez les malades. Chez l'homme, l'antigénicité des cellules leucémiques a pu être mise en évidence par des réactions d'immunité cellulaire in vitro (49;114;78;79) et par des réactions cutanées vis à vis d'extraits de membranes de leucoblastes autologues chez certains malades (80;106). Nous n'aborderons cependant pas cet aspect cellulaire de l'immunité anti-leucémique, car la plupart de ces expériences sont anciennes et la spécificité des réactions cellulaires in vitro a été récemment fortement remise en cause chez l'homme (107;111). De nouvelles études, tenant compte des découvertes récentes sont nécessaires dans ce domaine.

On peut espérer par contre que l'étude sérologique de ces antigènes clarifiera cette question dans un bref avenir, tout en fournissant, en outre, des réactifs abondants et standardisables. Cette étude a été abordée en utilisant d'une part des antisérums produits par immunisation active chez l'animal, d'autre part des sérums provenant de malades ou plus récemment d'individus normaux. Nous nous proposons dans une première partie de faire le point de la littérature sur ce sujet, et dans une deuxième partie de rapporter quelques résultats que nous avons obtenus au laboratoire d'immunologie et de cancérologie expérimentale du Centre Léon Bérard. Les structures définies par les antisérums animaux pouvant ne pas être antigéniques pour l'homme, nous avons délibérément choisi d'utiliser pour cette étude des sérums d'origine humaine.

- PREMIERE PARTIE -

I/ PRODUCTION D'ANTISERUMS CONTRE LES ANTIGENES ASSOCIES AUX LEUCEMIES HUMAINES CHEZ L'ANIMAL.

De nombreux auteurs ont essayé de produire chez l'animal des anticorps dirigés contre les leucémies humaines afin d'en définir les structures antigéniques indépendamment de leur éventuel rôle chez l'hôte. On s'est rapidement aperçu que certains antigènes des globules blancs normaux n'étaient pas retrouvés sur les cellules leucémiques (73;129), et il est possible que certains de ces antigènes puissent correspondre à des molécules ou enzymes qui caractérisent la différenciation des leucocytes normaux comme pourrait l'indiquer une étude récente de Billing et coll. (16). A l'opposé, certains antigènes identifiés à la surface des cellules leucémiques peuvent être des antigènes normaux exprimés en plus grande quantité que dans les cellules normales (1;63). En effet l'état blastique d'une cellule est susceptible d'augmenter soit la quantité d'un antigène de membrane, soit son accessibilité au cours du test permettant de le révéler; c'est pourquoi les caractères des cellules leucémiques devraient être comparés à ceux des cellules blastiques normales, qui ne sont malheureusement pas facilement disponibles chez l'homme.

Parmi ces antigènes normaux fortement exprimés sur certaines cellules leucémiques figurent les antigènes spécifiques de la lignée lymphocytaire dérivée du thymus (21;95;132; 145), mais aussi ceux de la lignée B (17;125), également reconnus par des allo-antisérums (50;86;140). Ces antigènes sont généralement détectables sur des cellules de leucémies lymphoïdes possédant par ailleurs d'autres caractéristiques membranaires de ces lignées (formation de rosettes avec les globules rouges de mouton, immunoglobulines de surface, récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines G, récepteur pour la 3ème fraction du complément) et dans ce cas la confusion avec des antigènes spécifiquement associés aux leucémies peut être évitée. Mais certaines leucémies lymphoïdes ne présentant aucun des caractères de différenciation des lymphocytes T ou B, et même certaines leucémies myéloïdes aiguës, ou chroniques en crise

blastique sont susceptibles de porter ces antigènes. Ils doivent donc être reconnus puisque représentant d'importantes causes d'erreur potentielle dans la définition d'antigènes spécifiquement associés au caractère leucémique, mais ne présentent en eux mêmes d'autre intérêt que nosologique, pouvant aider à définir l'origine dans telle ou telle lignée d'une cellule leucémique.

D'autre part, lorsqu'on immunise un animal contre des extraits tissulaires provenant d'une autre espèce, il est difficile de savoir dans quelle mesure la réaction obtenue est dirigée contre des antigènes d'espèce, des antigènes d'organe ou tissulaires, et les sérums doivent être absorbés sur des cellules sanguines normales. De cette façon, plusieurs auteurs ont décrit des antigènes qui, présents sur les cellules leucémiques, ne sont pas détectables sur les cellules normales (8; 147). Afin d'amoindrir ces réactions indésirables, certains auteurs ont utilisé des animaux rendus à la naissance tolérants à du matériel humain (18). Ainsi des sérums fabriqués chez des lapins tolérants, et absorbés ensuite sur des cellules humaines normales conservent une réactivité qui semble spécifique des cellules leucémiques (52; 54). De la même façon, Baker et coll. ont récemment montré que des sérums spécifiques des cellules leucémiques pouvaient être obtenus en immunisant des souris rendues préalablement tolérantes aux leucocytes du malade en rémission (2; 3) ou à ses plaquettes (4).

Des antisérums ont aussi été préparés chez le lapin en immunisant les animaux avec des extraits purifiés de membrane de cellules leucémiques fraîches ou cultivées, et en absorbant l'antisérum avec des antigènes HL-A solubilisés (138; 139). Certains sérums de lapin dirigés contre un extrait papainique de membrane de cellules RAJI (lignée lymphoblastoïde dérivée d'un lymphome de Burkitt) identifient des antigènes communs aux leucémies lymphoïdes et myéloïdes, mais qui, selon les auteurs peuvent être spécifiquement associés à leur caractère aigu (15; 59; 85; 87). Il est intéressant de noter ici qu'un sérum similaire dirigé contre une lignée lymphoblastoïde dérivée de L.M.C. et étudié par un test de cytotoxicité cellulaire à médiation humorale possède le même genre de spécificité (41). Par contre

les sérums de lapin préparés contre des cellules fraîches de L.L.C. détectent habituellement des antigènes communs aux leucémies lymphoïdes, aiguës ou chroniques, qui ne semblent pas être exprimés sur les leucémies de la lignée granuleuse (112; 20;98).

Metzgar et coll. (93;100) ont effectué une étude particulièrement complète en produisant chez divers primates non hominiens des antisérums dirigés contre des cellules leucémiques humaines de divers types cytologiques. Ces antisérums, après une série d'absorptions adéquates définissent plusieurs spécificités antigéniques: certaines, associées aux leucémies myéloïdes sont communes aux formes aiguës et chroniques, mais sont différentes de celles associées aux leucémies lymphoïdes. Plus récemment (99), ces auteurs ont étudié l'antigénicité des cellules de leucémie aiguë myélo-monocytaire et ont montré que ce type de leucémie partage un antigène commun avec les cellules de L.L.C., mais pas avec les cellules de L.A.M., permettant ainsi de différencier sérologiquement les L.A.M. des L.A.M.M. En fait le système est complexe, car un sérum dirigé contre des cellules de L.L.C. est actif dans un test de cytotoxicité à la fois contre des cellules de L.L.C. et contre des cellules de L.A.M.M., mais un sérum anti-L.A.M.M. n'est pas cytotoxique pour des cellules de L.L.C., malgré la présence de cet antigène sur les L.L.C. démontrable par absorption. Ce phénomène de "cytotoxicité négative/absorption positive" démontre bien combien la sérologie des A.A.L. est dépendante des techniques employées.

Les antigènes ainsi définis peuvent être décelés dans le plasma des malades (137), au moins pendant la phase visible de la maladie et leur disparition rapide a été observée après le début d'une chimiothérapie. Cependant, il est aussi possible de détecter dans ces plasmas les antigènes des lignées T (26) ou B (17) et il convient d'être extrêmement prudent dans l'interprétation de tels résultats.

Certains sérums "anti-leucémiques" réagissent aussi avec des cellules humaines foetales (62;138;139). En fait, la présence d'antigènes foetaux a été rapportée dans certaines leucémies viro-induites de la souris (135) et on ne peut exclure que certains des antigènes actuellement décrits dans les leucé-

mies humaines puissent correspondre à des spécificités embryonnaires. De tels antigènes embryonnaires pourraient être en cause aussi bien dans les réactivités obtenues avec certains sérums de lapin (8) qu'avec certains sérums humains provenant de parturientes décrits par Cullen (30), bien que l'activité de ces derniers ne soit pas absorbée par des tissus embryonnaires.

Plusieurs équipes ont aussi décrit l'existence de réactions croisées entre les antigènes associés aux leucémies humaines et les antigènes associés aux leucémies murines en utilisant des sérums de lapins immunisés avec des extraits de cerveaux leucémiques humains (54) ou du plasma concentré de leucémiques (46;47) ou encore des extraits de membrane de cellule RAJI (84). Cependant, ces résultats sont encore contradictoires, puisque utilisant une approche similaire, Metzgar et coll. (91) trouvent que les cellules de L.M.C. réagissent avec des sérums dirigés contre deux structures antigéniques (P.30 et GP.71) du virus de Friend, et que ces mêmes structures sont capables d'absorber l'activité de sérums de primates dirigés contre des leucémies humaines (cf. plus haut), alors que Greaves et coll. (21;53) ne trouvent pas de telles réactions croisées avec un sérum de lapin dirigé contre des cellules de leucémies lymphoïdes aiguës. Kim et coll. (70) avaient précédemment noté qu'un sérum dirigé contre la P.25 du virus Mason-Pfizer isolé chez le singe Rhésus réagissait avec des cellules de L.M.C., et tout à fait récemment il a été montré que l'activité d'anticorps dirigés contre les leucémies humaines pouvait être inhibée par des virus simiens comme le GALV (92).

Ces évidences immunologiques viennent renforcer les données virologiques (25;50;143) permettant de penser que des oncornavirus, qui pourraient être proches de ceux des autres mammifères et en particulier de ceux des singes, pourraient avoir une certaine responsabilité dans les leucémies chez l'homme (65;116;134).

Tableau 1 : ANTIGENES ASSOCIES AUX LEUCEMIES HUMAINES
RECONNUS PAR DES SERUMS ANIMAUX.

NATURE DE L'ANTISERUM	REFERENCE	PRESENCE DE L'ANTIGENE			
		L.A.L.	L.A.M.	L.L.C.	L.M.C.
Lapin anti-Raji	HALTERMANN, 59.	+	+	-	-
Lapin anti-Raji	BILLING, 15.	+	+	+	+
Lapin anti RPMI 4265	DURANTEZ, 41.	+	+	?	?
Singe anti-LLC	MOHANAKUMAR, 98.	+	-	+	-
Singe anti-LAM	"	-	+	-	+
Chimpanzé anti-LAL	"	+	-	-	-
Lapin anti-LLC	"	+	+	+	-
Singe anti-LLC	"	-	+	-	+
Lapin anti LAL non T	BROWN, 21.	+	-	-	-
Lapin anti-LLC	PHAN, 112.	+	-	+	-
Souris tolé- rante anti LAL	BAKER, 2.	+	-	?	?
Souris tolé- rante anti-LAM	"	-	+	?	?
Lapin anti-LLC	BROUET, 20.	+	-	+	?

II/ REACTIONS SEROLOGIQUES CONTRE LES LEUCEMIES HUMAINES CHEZ L'HOMME.

II-1/ Anticorps dirigés contre des cellules leucémiques allogéniques.

La recherche de réactions immunitaires "antileucémiques" chez des malades leucémiques ou chez des individus normaux se rapproche plus de la situation expérimentale. On a recherché et trouvé des anticorps dirigés contre les antigènes de membrane des cellules leucémiques dans le sérum de malades atteints de leucémies. Cependant, l'existence d'allo-anticorps dirigés contre les antigènes du système HL-A ne peut être complètement éliminée dans les tests qui sont pratiqués en situation allogénique, et de nombreuses réactions positives peuvent être attribuées à une réactivité développée contre des allo-antigènes à la suite de transfusions sanguines. En effet, les cellules leucémiques expriment les antigènes d'histocompatibilité (74) et sont de plus particulièrement sensibles à la lyse par des allo-anticorps et du complément hétérologue (74;108). C'est ainsi que dans une étude de 170 sérums provenant de 112 malades atteints de leucémies aiguës, Kourilsky et coll. (75) détectent 9 sérums positifs par le test d'immunofluorescence de membrane contre un panel de 3 à 6 cellules leucémiques allogéniques. Ces 9 sérums avaient été obtenus de malades transfusés, et 6 d'entre eux possédaient des anticorps antileucocytes sérologiquement détectables. Dans une étude similaire, en utilisant les tests d'immunofluorescence de membrane indirecte et d'hémadsorption mixte, à la fois sur des cellules fraîches et sur des cellules cultivées, Maruyama et coll. (35;88) trouvent que 30 pour 100 des sérums de 177 malades atteints de leucémies de tous types ou de lymphomes réagissent avec des cellules leucémiques allogéniques, mais que 10 pour 100 de ces sérums réagissent aussi avec des cellules normales.

Un antigène nucléaire associé aux leucémies (LANA) a été mis en évidence par Klein et coll. (71) en utilisant le test

d'immunofluorescence anti-complémentaire, principalement dans les leucémies aiguës myéloblastiques. Mais il a été montré par la suite que cet antigène est assez généralement associé aux cellules en prolifération: cellules leucémiques, mais aussi cellules de mononucléose infectieuse, lymphocytes stimulés, cellules de lignées continues, bien que l'anticorps correspondant soit essentiellement trouvé chez des malades porteurs de leucémie myéloïde (121;131).

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour tenter d'expliquer le faible pourcentage de détection de réactions sérologiques contre les cellules leucémiques chez les malades en phase visible de leur maladie. L'existence d'antigènes circulants sous forme libre, ou complexés à des anticorps (66;67) peut d'une part jouer un rôle inhibiteur de la réponse immune et d'autre part faire obstacle à la mise en évidence d'anticorps dans ces sérums. De plus, la cible des processus leucémiques étant au moins en ce qui concerne les leucémies lymphoblastiques, une cellule immunologiquement compétente, le malade peut se trouver en état de déficit immunitaire. De nombreuses tentatives pour restaurer les défenses immunitaires des patients, une fois la rémission obtenue par chimiothérapie, ont été effectuées ces dernières années. L'utilisation de B.C.G., seul ou en association avec des blastes allogéniques, a montré une efficacité certaine. Mais ces tentatives d'immunothérapie sont aussi intéressantes dans la mesure où un certain nombre de malades soumis à ces traitements sont susceptibles d'élaborer des anticorps dirigés contre les cellules utilisées pour l'immunisation et de fournir ainsi les réactifs d'une étude sérologique des antigènes associés aux leucémies. C'est ainsi que, au cours d'un protocole thérapeutique utilisant des myéloblastes allogéniques irradiés, en association avec du B.C.G., Ramachandar et coll. (117) ont pu obtenir chez 8 malades sur 12, l'apparition d'anticorps contre les cellules ayant servi à l'immunisation, ainsi que contre un panel de 12 myéloblastes allogéniques. Ces anticorps étaient démontrables à la fois par un test d'immunofluorescence et par un test de microcytotoxicité. Bien que l'immunisation ait fait appel à des cellules allogéniques, les anticorps ainsi obtenus n'ont pratiquement pas montré d'activité sur les lymphocytes de

rémission de 5 patients ni sur des lymphocytes normaux. Mann et coll. (85) avaient démontré la présence d'au moins un antigène commun aux leucémies lymphoïdes aiguës et à la cellule RAJI; il leur est donc apparu intéressant d'utiliser la lignée RAJI comme source d'antigène dans un essai d'immunothérapie de la leucémie lymphoblastique aiguë (82;83;122). Des anticorps dirigés contre la cellule RAJI sont détectés entre le 2ème et le 4ème mois du traitement chez 5 des 8 malades soumis à cet essai. Cependant, 3 seulement de ces 5 malades ne présentent pas d'anticorps dirigés contre des leucocytes normaux. L'un d'entre eux présente une activité anti HL-A3 (antigène exprimé par la cellule RAJI), un autre présente une réactivité anti-leucocyte qui n'est pas reliée au système HL-A.

Des anticorps contre les cellules leucémiques ont aussi été trouvés dans le sérum d'individus normaux. Greenspan et coll. (54;55) ont immunisé 9 volontaires par des extraits de cerveaux humains leucémiques et trouvent que tous ces sérums réagissent dans des tests d'anaphylaxie cutanée passive, d'immunodiffusion et d'immunofluorescence cytoplasmique, à la fois avec des extraits de cerveaux humains et murins. L'absorption de ces antisérums avec des extraits de cerveau humain normal ne modifie pas ces résultats. La réactivité avec du cerveau leucémique a été aussi détectée dans le sérum de 6 personnes travaillant avec des tissus leucémiques humains et murins depuis plus de 6 mois. Bias et coll. (14) ont aussi démontré l'existence d'anticorps cytotoxiques pour des cellules de leucémies lymphoblastiques aiguës dans le sérum de 7 individus normaux non immunisés. Il est intéressant de noter que l'un de ces sérums provient du père d'un enfant atteint de leucémie aiguë lymphoblastique et qu'un autre sérum est celui d'un jumeau de patient atteint de leucémie aiguë lymphoblastique. Ces sérums ne réagissent ni avec des cellules de leucémies lymphoïdes chroniques, ni avec des cellules de leucémies monocytaires aiguës, ni avec des cellules de lymphosarcomes; ils réagissent avec les cellules de 3 leucémies aiguës myéloïdes sur 12 tests. L'absorption de ces sérums avec des cellules normales n'altère pas leur réactivité, alors que celle-ci est complètement absorbée par des cellules de leucémies aiguës lymphoblastiques. Une observation tout à fait similaire a récemment été

rapportée par Cohen et coll.(28) qui ont montré l'existence dans le sérum de donneurs de plasmaphérèse d'anticorps cytotoxiques pour des cellules des quatre principaux types cytologiques de leucémies humaines. L'existence d'anticorps dirigés contre des cellules leucémiques chez les mères ou les frères et soeurs de malades, vivant en relation étroite avec un malade leucémique avait été suggérée dès 1963 par Schwartz et coll. (126). Par ailleurs, une étude récente de parents d'enfants leucémiques (60) a montré que sur 35 paramètres biologiques étudiés, les seules modifications observées l'étaient dans le système immunitaire: l'élévation du taux des immunoglobulines ainsi que du pourcentage des lymphocytes B et de celui des polynucléaires basophiles a pu être interprétée comme la traduction d'une réponse immunitaire.

II-2/ Anticorps dirigés contre des cellules leucémiques autologues.

L'existence d'antigènes ayant été prouvée par l'utilisation de sérums hétérologues, et la démonstration d'anticorps dirigés contre des cellules leucémiques allogéniques ayant été faite dans les sérums de malades, il apparaissait comme essentiel de pratiquer ces études en situation autologue, afin de rechercher une éventuelle réaction sérologique de l'hôte contre des antigènes associés à sa propre leucémie. De telles réactivités autologues sont cependant rarement démontrables en phase aiguë de la maladie pour les raisons citées précédemment. En testant chaque sérum avec plusieurs techniques différentes, parmi lesquelles la cytotoxicité dépendant du complément, l'immunofluorescence de membrane, la fixation du complément et l'immuno-adhérence, Doré et coll.(40) trouvent que sur 51 patients atteints de leucémies lymphoïdes aiguës ou chroniques non traitées, 12 seulement possèdent dans leur sérum des anticorps contre les cellules leucémiques autologues; dans la plupart des cas, un seul test était positif. Maruyama et coll. (88) trouvent des anticorps contre les cellules tumorales auto-

-logues en test d'immunofluorescence chez 5/10 malades atteints de leucémies ou de lymphomes. Ces résultats ont été confirmés par Yoshida (146) qui trouve des anticorps contre des membranes de cellules leucémiques humaines chez 15/30 patients présentant diverses formes de leucémies en utilisant une technique d'immuno adhérence. Quatre patients atteints de leucémie myéloïde chronique ont été suivis pendant 1 année et le titre des anticorps a augmenté pendant la période de rémission. Des études en situation allogénique, qu'il s'agisse de leucémies myéloïdes chroniques ou de leucémies myéloïdes aiguës, ont indiqué que des réactions croisées entre les différents types cytologiques de leucémies pouvaient être obtenues, mais aussi qu'au moins deux spécificités antigéniques pouvaient être démontrées. Il est intéressant de noter des résultats similaires rapportés par Metzgar (92) avec des sérums de primates. Des anticorps dirigés contre les cellules leucémiques autologues ont été décrits dans les sérums de patients en rémission (32) et dans une étude de 54 malades atteints de leucémies aiguës, Kourilsky et coll. (75) trouvent un seul sérum positif sur 44 étudiés en immunofluorescence de membrane contre les cellules blastiques autologues obtenues au cours de la rechute. Ce faible pourcentage de réactivité peut être en partie expliqué par un phénomène "d'échappement". Les cellules de la rechute pouvant alors ne plus exprimer les antigènes contre lesquels le malade s'est immunisé. Dans une autre étude, (39) chez 73 malades atteints de leucémies aiguës (44 L.A.L. et 29 L.A.M.) l'incidence d'anticorps détectables contre des cellules leucémiques autologues en phase active de la maladie, était respectivement de 10 pour 100 en utilisant un test d'immunofluorescence de membrane et de 20 à 30 pour 100 en utilisant un test d'immuno adhérence. Mitchell et coll. (96) ont également montré l'existence d'anticorps dirigés contre leurs propres cellules leucémiques chez 25/25 malades atteints de leucémies aiguës, en utilisant la cytophilie de ces anticorps pour des macrophages de souris et la formation de rosettes entre les macrophages ainsi traités et les cellules leucémiques. Des réactions croisées sont détectables par cette technique, mais strictement à l'intérieur d'un type cytologique donné. En utilisant certaines

techniques, les contrôles de spécificité de ces anticorps sont d'une importance particulière. C'est ainsi que Dickson (34) mentionne l'existence de substances non-anticorps, "lymphocytotoxines", capables de lyser des lymphocytes normaux dans le sérum de la plupart des malades atteints de leucémies myéloïdes aiguës ou chroniques. Dans l'ensemble il semble donc que, bien que des anticorps dirigés contre des cellules leucémiques autologues puissent être démontrés dans le sérum des malades atteints de leucémies, à la fois pendant la phase visible de la maladie et pendant la rémission, ces anticorps sont plutôt rares et en tous cas de faible activité. La spécificité de ces anticorps ne peut prétendre définir actuellement un système clair d'antigènes associés aux leucémies avec des critères précis de réactivité croisée.

Théoriquement, les anticorps démontrés de cette façon devraient réagir avec les cellules leucémiques in vivo et être ainsi directement détectables à leur surface. Plusieurs études récentes ont effectivement fait état de l'existence d'immunoglobulines à la surface des cellules leucémiques. Guttermann et coll. (58) ont rapporté la démonstration directe d'immunoglobulines G à la surface de cellules leucémiques dans 8 cas sur 44 de leucémies aiguës myéloïdes, mais il n'est pas démontré si ces immunoglobulines sont ou non monoclonales. Par contre, de telles immunoglobulines ont été détectées par immunofluorescence directe chez 10 malades atteints de leucémie aiguë lymphoblastique. Ces résultats sont confirmés par Samoïlova et coll. (123) qui trouvent 4 leucémies myéloïdes aiguës positives sur 38 cas étudiés. D'autre part cet auteur rapporte 9 cas de leucémies aiguës myélo-monocytaires présentant des immunoglobulines de membrane sur 10 étudiés. Cependant ce dernier point doit être discuté en fonction de l'expression par les cellules de leucémies myélo-monocytaires d'un récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines G dépourvues d'activité anticorps "anti-leucémique". Seule la démonstration d'une activité anticorps dans les éluats de cellules leucémiques peut permettre d'interpréter raisonnablement la présence de ces immunoglobulines. C'est ainsi que Metzgar (94) rapporte 2 cas de leucémies lymphoïdes chroniques et 3 cas de leucémies myéloïdes chroniques à la surface desquelles des immunoglobulines ont été détectées

par microcytotoxicité et dont les éluats contenaient une activité antileucémique sur des cellules allogéniques. Des immunoglobulines attachées à la surface de cellules leucémiques des 4 grands types cytologiques ont aussi été démontrées par des techniques d'élution acide (103). Dans cette dernière étude, les cellules leucémiques fraîches ont aussi été étudiées par immunofluorescence directe et aucun marquage significatif n'a pu être démontré bien que des immunoglobulines G soient trouvées dans 5 éluats sur 20. Il n'est pas exclu que ces anticorps s'attachent effectivement aux cellules leucémiques *in vivo*, mais se trouvent soit en quantité trop faible pour être révélés par un test direct, soit éliminés au cours de la préparation des suspensions cellulaires par lavage, ou encore "internalisés" ou éliminés de la surface cellulaire par un mécanisme relié à la modulation antigénique (105) ou par des phénomènes de redistribution (76;133). Des complexes probablement éliminés ainsi de la surface cellulaire ont été mis en évidence dans le sérum de malades leucémiques en phase visible de leur maladie (66). Il est intéressant de noter que les complexes isolés du plasma de malades survivant à long terme, lors d'une rechute passagère, contiennent des anticorps de très haute avidité et ne se dissocient qu'à force ionique élevée (66).

La possibilité que les malades développent des auto-anticorps contre les leucocytes, soit spontanément, soit à la suite de transfusions sanguines (31;128) doit être notée dans la mesure où ces auto-anticorps peuvent éventuellement réagir contre des cellules leucémiques autologues. De tels anticorps semblent plus fréquents dans les leucémies aiguës monocytaires (69), dans les crises blastiques de leucémies myéloïdes chroniques (81) et dans les leucémies à forme leucopénique (44;69), où leur responsabilité dans l'induction de la leucopénie a pu être suspectée.

Si l'on admet que les leucémies humaines possèdent des antigènes tumoraux, on peut aussi admettre, eu égard aux faits exposés plus haut, que ces antigènes sont probablement difficilement accessibles ou peu exprimés à la surface des cellules fraîches pour une quantité de raisons en relation ou non avec les mécanismes qui permettent aux cellules tumora-

-les d'échapper à la réaction de l'hôte. Les cellules leucémiques en culture pourraient être une bien meilleure source d'antigènes associés aux leucémies. En effet les cellules cultivées sont dépourvues d'anticorps absorbés en provenance de l'hôte et peuvent exprimer des antigènes qui n'étaient pas décelables sur la cellule fraîche originale. Par exemple, Trujillo et coll.(136) ont montré que le sérum d'un malade atteint de lymphome réagissait avec ses propres cellules en culture. Des lignées cellulaires ont été établies à partir de sang périphérique de malades leucémiques ou d'individus normaux (7;120). Rosenfeld et coll. ont pu montrer que l'expression des antigènes de membrane y était augmentée par rapport à l'expression sur les cellules fraîchement recueillies (119) et que l'antigénicité associée aux leucémies définie par la réactivité avec le sérum du malade y était conservée (6). D'autre part, cette antigénicité était aussi exprimée par un hybride somatique homme-souris obtenu par fusion de fibroblastes de souris et d'une lignée permanente dérivée de leucémie aigue lymphoblastique (77). Mann et coll. ont en outre montré que la lignée lymphoblastoïde RAJI dérivée d'un lymphome de Burkitt exprimait au moins un antigène commun aux leucémies aiguës lymphoblastiques et que l'utilisation de cette lignée comme source d'antigène dans un essai d'immunothérapie provoquait chez le malade l'apparition d'anticorps dirigés contre les leucémies. Par ailleurs, Durantez et coll.(41;42) ont montré en utilisant une technique de cytotoxicité cellulaire à médiation humorale que des lignées lymphoblastoïdes obtenues à partir de leucémies myéloïdes exprimaient au moins un antigène commun aux leucémies aiguës lymphoïdes et myéloïdes. De la même façon, Mohanakumar et coll.(101) ont montré en utilisant les sérums de primates déjà mentionnés que différentes lignées lymphoblastoïdes dérivées de leucémies exprimaient des antigènes associés aux leucémies. Par contre la lignée HR1K, dérivée d'un lymphome de Burkitt et productrice de virus EB n'exprime pas ces antigènes, ce qui exclut une réactivité des sérums avec le système antigénique du virus EB, virus qui contamine la plupart des lignées lymphoblastoïdes. En outre, une lignée lymphoblastoïde dépourvue du génome du virus EB et porteuse d'un marqueur

chromosomique a récemment été établie par Rosenfeld et coll. (118) à partir d'une leucémie aiguë lymphoblastique; cette lignée exprime des antigènes associés aux leucémies définis par des sérums animaux, mais aussi par des sérums humains. Cependant l'utilisation des cultures comme matériel permettant de définir sérologiquement les antigènes associés aux leucémies doit être prudente. En effet l'antigénicité des cellules leucémiques de souris, ainsi que des cellules lymphoblastoïdes humaines peut s'altérer au cours de la culture (72); l'expression des antigènes de membrane dépend par ailleurs du cycle cellulaire (68; 119; 144). De plus l'existence d'anticorps naturellement cytotoxiques pour des lignées lymphoblastoïdes a pu être montrée par Herbermann dans des sérums humains normaux ainsi que dans des sérums de malades (64). Des essais de typage par absorption, utilisant des lignées dérivées de lymphosarcomes ou de leucémies et les sérums autologues positifs des malades sont en cours. Ces études indiquent qu'au moins deux spécificités antigéniques peuvent être décelées sur des cellules de leucémies aiguës lymphoblastiques fraîches ou cultivées et que l'une de ces spécificités est certainement différente du complexe MA associé au lymphome de Burkitt puisqu'elle est présente sur la cellule RAJI (MA négative) (56).

Tableau 2 : ANTIGENES ASSOCIES AUX LEUCEMIES HUMAINES
RECONNUS PAR DES SERUMS HUMAINS.

ORIGINE	PRESENCE DE L'ANTIGENE				
DES SERUMS	REFERENCE	L.A.L.	L.A.M.	L.L.C.	L.M.C.
SERUM DE MALADES.....					
L.A.L.	MITCHEL, 96.	+	-	?	?
L.A.M.	"	-	+	?	?
Système PON	GUIBOUT, 56.	+	-	±	-
Système DEL	"	+	±	?	±
SERUMS DE MALADES IMMUNISES.....					
	MANN, 82.	?	+	?	?
	RAMACHANDAR, 117.	?	+	?	?
SERUMS DE DONNEURS NORMAUX.....					
	COHEN, 28.	+	+	+	+
	CULLEN, 30.	-	-	+	-

III/ INTERET CLINIQUE DE CES ANTISERUMS.

Les utilisations cliniques potentielles de ces sérums dirigés contre des cellules de leucémies humaines sont nombreuses, et un certain nombre d'entre elles sont en cours d'étude ou ont déjà fait l'objet d'explorations préliminaires.

III-1/ Utilisations diagnostiques.

Si l'étude cytologique permet le plus souvent d'identifier les cellules leucémiques, il existe cependant quelques cas où elle s'avère insuffisante. Des progrès sont à espérer grâce à l'utilisation simultanée des techniques permettant de reconnaître les cellules de la lignée lymphoïde par leurs marqueurs de surface, mais ces techniques ne peuvent espérer reconnaître plus de 30 pour 100 des leucémies aiguës lymphoblastiques; en effet la majorité de ces leucémies n'expriment aucun des marqueurs classiques des lymphocytes normaux. Par contre, la gamme des hétéro-immunsérums anti-leucémiques existants permet déjà de recouper les classifications cytologiques, et même de les préciser comme par exemple dans le cas des leucémies aiguës myélo-monocytaires (99). Il est probable que la confrontation de ces différentes méthodes amènera à plus de précision dans la classification des leucémies, mais il est encore trop tôt pour savoir si dans ce domaine les sérums humains rendront les mêmes services que les sérums animaux.

III-2/ Utilisation dans la surveillance des malades.

Les antigènes associés aux leucémies humaines disparaissent généralement au cours des rémissions de la maladie, et leur réapparition au cours de la rechute peut permettre de la diagnostiquer avant qu'elle ne soit cytologiquement décelable. C'est ainsi qu'utilisant un sérum de lapin dirigé contre les leucémies aiguës lymphoblastiques, Brown et coll. (21) ont constaté que sur 9 malades qui, en rémission n'exprimaient plus

d'antigène, aucune rechute n'est survenue, alors que sur 5 malades dont les cellules exprimaient encore ces antigènes, un n'était qu'en rémission partielle et deux ont présenté une rechute dans le mois suivant l'examen.

Dans une étude récente, Ekert et coll.(43) ont traité 12 enfants en rémission de leucémie aiguë lymphoblastique par une chimiothérapie intermittente et du B.C.G. Huit de ces enfants ont montré une augmentation du titre sérique en anticorps dirigés contre un extrait de membrane de cellules leucémiques. Aucun anticorps n'a pu être mis en évidence dans le sérum d'un enfant qui a rechuté rapidement au début du traitement, et chez un autre enfant une rechute médullaire s'est accompagnée d'une chute du taux des anticorps. Parmi les 8 enfants dont le taux d'anticorps a augmenté, les auteurs ont cependant observé deux rechutes au niveau du système nerveux central.

Il apparaît donc possible aujourd'hui, soit par la détection d'antigènes, soit par la surveillance du taux des anticorps dirigés contre ces antigènes de prévoir les rechutes des leucémies. Il n'est pas impensable, s'il était possible d'identifier des populations à haut risque leucémique, comme par exemple les individus atteints de maladie de Fanconi ou de trisomie 21, de mettre sur pied un véritable dépistage des leucémies grâce à des méthodes immunologiques.

III-3/ Tentatives d'immunothérapie passive.

Si les publications qui établissent l'intérêt dans les leucémies de l'immunothérapie active, spécifique ou non spécifique, sont nombreuses (cf. réf. 89 pour revue), les tentatives d'immunothérapie passive n'ont pas à ce jour convaincu de leur efficacité, ni même de leur innocuité. Des sérums "anti-leucémiques" hétérologues ont été utilisés pour réduire le nombre des cellules leucémiques. C'est ainsi que De Carvalho(33) a utilisé des sérums équins "anti-leucémiques" et Sekla (127) des sérums provenant de moutons et de porcs immunisés contre les leucémies humaines, mais sans grand résultat, d'autant que

ces sérums hétérologues sont susceptibles d'induire une sensibilisation du receveur.

Dans le cas du lymphome de Burkitt, Ngu (104) a pu induire une régression de la masse tumorale chez deux malades par le transfert de 150 millilitres de plasma provenant de malades en rémission depuis plus de deux ans. Dans ces deux cas, les rémissions obtenues de cette manière n'ont pas excédé trois semaines, mais ont pu être objectivées par la diminution de volume d'une masse tumorale facilement évaluable et par l'élévation contemporaine du taux d'acide urique. Chez ces deux malades, la contre-épreuve, c'est à dire la transfusion de plasma provenant de donneurs normaux est restée sans effet.

- DEUXIEME PARTIE -

I/ MATERIEL ET METHODES.

I-1/ Obtention des cellules leucémiques.

Un prélèvement de sang veineux ou de moelle osseuse est effectué sur une héparine sans conservateur (Calciparine Choay; 50 unités par ml). Les suspensions de cellules leucémiques sont obtenues par simple sédimentation et lavage s'il s'agit de blastes d'origine granuleuse, ou par centrifugation sur gradient de Ficoll-Radioslectan (19) dans le cas de blastes d'origine lymphoïde. Les globules rouges éventuellement contaminants sont lysés au chlorure d'ammonium 0,85 pour 100, puis les cellules sont lavées et ajustées à la concentration désirée en solution saline de Hanks.

I-2/ Technique de microcytotoxicité.

La technique employée est dérivée de celle décrite par Terasaki (97). 4000 cellules (10^{-3} ml) sont incubées avec 10^{-3} ml d'antisérum pendant 30 minutes à la température du laboratoire dans une microplaque (Falcon 3034); $5 \cdot 10^{-3}$ ml d'une dilution appropriée de sérum de lapin, généralement non absorbé mais sélectionné pour l'absence d'anticorps naturels anti-homme, sont ajoutés comme source de complément. Après une heure d'incubation, 10^{-3} ml de bleu Trypan sont ajoutés dans les puits, préalablement décantés à la pipette, et le pourcentage de cellules mortes est compté à l'aide d'un microscope inversé.

Les réactions sont considérées comme faiblement positives lorsque 30 à 50 pour 100 des cellules sont tuées et comme fortement positives lorsque 50 pour 100 des cellules ou plus sont tuées.

Les sérums étudiés ont fréquemment montré des prozones lorsqu'ils ont été employés purs ou à la dilution du demi. Leurs titres varient en fonction de la cellule étudiée, mais sont habituellement compris entre 1:4 et 1:16.

I-3/ Technique d'absorption.

Lorsque une réactivité était obtenue entre un sérum et une cellule leucémique, nous avons cherché à savoir si cette activité était absorbable par cette cellule, ou par d'autres. Pour cela, le sérum est incubé pendant une heure à 37°C avec les cellules dans le rapport de 2.10^8 cellules/ml de sérum. Le sérum est récupéré par centrifugation puis retesté en micro-cytotoxicité.

I-4/ Techniques de détermination des marqueurs de membrane.

Les techniques de détermination des rosettes E., EAC., des immunoglobulines de membrane et l'obtention de sérum anti cellule T ont été décrites en détail précédemment (12).

II/ ANTICORPS CYTOTOXIQUES POUR DES CELLULES LEUCEMIQUES DANS LE SERUM DE DONNEURS NORMAUX.

La notion déjà ancienne que des exsanguino-transfusions, voire des transfusions simples, pouvaient améliorer transitoirement certains malades leucémiques (13,29) et la récente description par Bias et coll. (14) d'anticorps cytotoxiques dans le sérum de donneurs normaux, nous ont amenés à étudier deux sérums qui, de façon tout à fait fortuite, avaient entraîné une rémission partielle chez des malades atteints de LAL.

II-1/ Circonstances de découverte de ces sérums.

Sérum MARS.

L'enfant M.. Franck est admis dans le service de Monsieur le Professeur Larbre (hôpital Debrousse), le 26 décembre 1974. Il est âgé de 4 ans et souffre d'une leucémie aiguë lymphoblastique. La numération met alors en évidence la présence de 80.000 globules blancs/mm³ dont 98% sont des lymphoblastes leucémiques typiques. L'enfant est anémique et reçoit, le 28 décembre, 200 ml. de concentré de globules rouges provenant du donneur MARS. Le 30 décembre, alors qu'aucune thérapeutique spécifique n'avait encore été entreprise, la numération montre 3.300 globules blancs/mm³ dont 30% de lymphoblastes. Du 29 au 31 décembre, l'enfant est fébrile, avec des clochers supérieurs à 40°, alors que l'hémoculture est stérile. Le 2 janvier 1975, le traitement est commencé et l'enfant est actuellement en rémission, 23 mois après le début de sa maladie.

Sérum LAT.

L'enfant B.. Emmanuel est admis dans le service de Monsieur le Professeur Jeune (hôpital Debrousse), le 19 janvier 1976, à l'âge de 4 mois. L'état général est très atteint, et le diagnostic de LAL est porté sur le myélogramme et la numération qui montre 100.000 globules blancs/mm³ dont 99% de lymphoblastes. L'enfant est très anémique

(Hb:2,5 g/100 ml) et reçoit 200 ml. de sang total provenant du donneur LAT. Sans aucun autre traitement, la numération est retrouvée à 18.800 globules blancs /mm³, le 20 janvier 1976, et 16.800, le 21. L'enfant est malheureusement décédé, trois jours après son admission, d'une hémorragie méningée, avant que tout traitement spécifique ait pu être entrepris.

II-2/ Renseignements concernant ces donneurs.

Les deux donneurs ont pu être identifiés grâce au numéro apposé sur les flacons par le Centre de Transfusion Sanguine. Monsieur MARS ... est un homme de 47 ans, de groupe sanguin ORh+ , sans antécédent pathologique notable et habitant une petite commune rurale du Rhône. Il n'y a, semble-t-il, jamais eu de personne atteinte d'hémopathie maligne dans son entourage. Monsieur LAT ... est un homme de 32 ans, donneur de sang de groupe ORh+, en bonne santé, sans antécédent pathologique personnel, mais dont l'épouse est antérieurement décédée d'un sarcome de l'oesophage, à l'âge de 28 ans.

II-3/ Etude de ces deux sérums.

Ces deux sérums ont été testés à la recherche d'anticorps cytotoxiques pour les cellules leucémiques provenant de 111 malades, pour le sérum MARS., et de 31 malades, pour le sérum LAT. Les résultats de ces tests sont colligés dans le tableau 3, qui montre la relative spécificité de ces sérums pour les leucémies aiguës, lymphoblastiques et myéloblastiques pour le sérum MARS., essentiellement lymphoblastiques pour le sérum LAT. La détermination systématique du caractère T ou B par leurs marqueurs de membrane des cellules de LAL, étudiées avec ces sérums, fait apparaître que l'antigène "MARS." semble moins fréquemment détectable sur les LAL T (12,5%) que sur les "non T" (40%). Cette observation nous a conduits à penser que cette réactivité pouvait être due à d'éventuels anticorps anti B. Ceci paraît cependant assez improbable dans la mesure où ce sérum ne réagit ni avec les cellules de 15 leucémies lymphoïdes chroniques de na-

-ture B,ni avec 8 suspensions de lymphocytes B provenant de donneurs normaux,et purifiés par sédimentation sur gradient de Ficoll-Radiosélectan après formation de rosettes E.

Tableau 3 : SPECIFICITE DES SERUMS DE DONNEURS NORMAUX.

	MARS.	LAT.
Lymphocytes normaux	1/69	0/40
L.A.L. T	2/8	1/2
L.A.L. B	3/3	-
L.A.L. ni T, ni B	17/46	6/13
Total L.A.L.	22/57	7/15
L.A.M.	6/25	2/10
L.L.C.	0/15	0/2
L.S.	2/8	0/2
L.M.C.	2/8	1/2

III/ PRESENCE D'ANTICORPS CYTOTOXIQUES POUR DES CELLULES LEUCEMIQUES DANS LE SERUM DE PARENTS D'ENFANTS LEUCEMIQUES.

Après qu'ait été apportée la démonstration de la présence d'anticorps cytotoxiques pour des cellules leucémiques humaines dans le sérum d'individus normaux, la possibilité se présentait d'une recherche systématique de tels sérums. Cependant la fréquence de ce phénomène ne doit pas être telle qu'une recherche à l'aveugle puisse fournir des résultats suffisants. C'est pourquoi nous avons décidé d'étudier la population composée par les proches de malades leucémiques, et essentiellement les parents directs. Un certain nombre d'études suggèrent en effet que c'est chez eux que l'on a le plus de chances de trouver des modifications en rapport avec la maladie de leur proche. D'une part, l'étude des familles de leucémiques montre que le risque pour un individu de contracter cette maladie est accru s'il y a déjà un cas dans sa famille, suggérant une possible intervention de facteurs génétiques (57), et d'autre part, Hann et coll. ont rapporté l'existence chez les mères de leucémiques de petites modifications de la formule sanguine et du taux des immunoglobulines qui pourraient refléter la présence d'un agent infectieux susceptibles d'avoir été transmis à l'enfant (60).

Nous avons recherché dans le sérum de 56 individus, cliniquement et biologiquement sains, pères ou mères d'enfants leucémiques, la présence d'anticorps cytotoxiques pour les cellules leucémiques de leur enfant. Cette recherche a été positive chez 2/3 pères et 0/4 mères d'enfants atteints de leucémie aiguë myéloblastique, ainsi que chez 3/24 pères et 5/25 mères d'enfants atteints de leucémie aiguë lymphoblastique. L'étude de la spécificité de cette réaction a montré que 3 de ces sérums, provenant de femmes multipares, exprimaient une activité anti-HL-A; ils réagissaient soit avec les cellules du père de l'enfant, soit avec celles de frères ou de soeurs du malade possédant les mêmes antigènes HL-A que ce dernier, et en outre avec un certain nombre de lymphocytes de donneurs normaux, ce qui nous a conduit à écarter ces trois sérums de

l'étude ultérieure. Les 7 autres sérums étaient négatifs sur des lymphocytes normaux, ainsi que sur les lymphocytes du malade obtenus à divers moments de la rémission. Pour un seul des enfants étudiés, le père et la mère étaient simultanément positifs; il s'agissait d'une leucémie aiguë lymphoblastique.

Ces sérums ont ensuite été testés sur des cellules leucémiques provenant de malades non apparentés. Le tableau 5 fait apparaître des différences de réactivité quantitativement et qualitativement importantes, mais, d'une façon générale, les anticorps ainsi détectés sont relativement spécifiques des cellules de leucémies aiguës. Seul le sérum MOU., provenant du père d'un enfant atteint de leucémie aiguë myéloblastique, semble réagir significativement avec des cellules de leucémie myéloïde chronique (4/8).

La confrontation des résultats obtenus avec ces divers sérums fait apparaître la possibilité de plusieurs spécificités à l'intérieur du groupe des leucémies aiguës lymphoblastiques. Il est même possible de suspecter l'existence de groupes d'inclusion, à l'instar de ce qui a été décrit pour le système HL-A. En effet on peut étudier la fréquence relative de deux antigènes en fixant l'un des paramètres. Par exemple (tableau 6), la fréquence de l'antigène MARQ. est, dans le groupe général des leucémies aiguës lymphoblastiques de 18%; elle passe à 41% dans le groupe des leucémies exprimant l'antigène MOR., et à 3% dans le groupe de celles ne présentant pas cette caractéristique. Il semble donc que l'expression de l'antigène MARQ. soit étroitement liée à celle de l'antigène MOR., ceci pouvant signifier que le sérum MOR. possède au moins deux spécificités, dont l'une serait superposable à celle du sérum MARQ. Par contre la fréquence de l'antigène SAX. dans les groupes MOR.+ et MOR.- n'est pas différente de celle observée dans le groupe général, signifiant ainsi l'indépendance de ces deux antigènes. Une série de calculs analogues amène à construire la figure 1, qui fait apparaître l'existence théorique d'au moins 3 antigènes définis par des sérums de parents de malades à la surface des cellules de leucémie aiguë lymphoblastique. Ces données statistiques devront bien entendu être vérifiées par des expériences d'inhibition de cytotoxicité et des absorptions croisées.

Tableau 5 : SPECIFICITE DES SERUMS DE PARENTS

	Lymphocytes normaux	L.A.L.	L.A.M.	L.L.C.	L.M.C.
° MOU.	0/59	18/59	7/29	1/10	4/8
° VIN.	0/30	2/23	1/16	0/5	0/2
+ MARQ.	0/58	10/54	6/26	0/10	1/8
+ SAX.	0/38	7/44	4/22	0/10	1/8
+ MOR.	0/38	18/49	4/23	2/10	0/8
‡ MOR.	0/38	2/49	3/23	0/10	1/8
‡ BON.	0/30	2/8	2/9	NT	0/2

°: Pères d'enfants atteints de L.A.M.

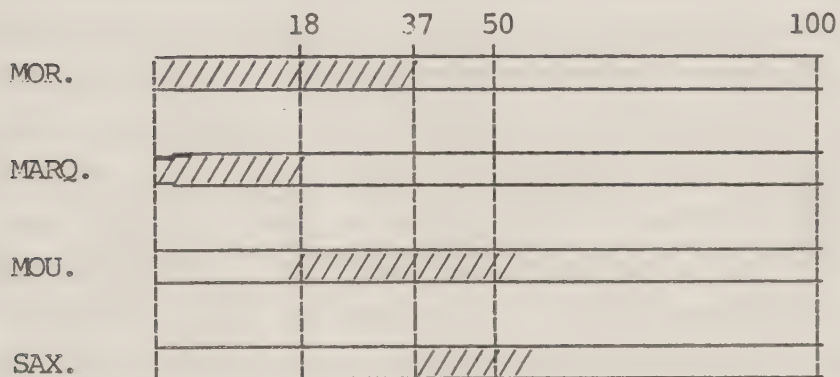
+: Pères d'enfants atteints de L.A.L.

‡: Mères d'enfants atteints de L.A.L.

Tableau 6 : FREQUENCES RELATIVES DE QUELQUES ANTIGENES DES L.A.L.

	L.A.L.	L.A.L.	L.A.L.	L.A.L.	L.A.L.
		MOR.+	MOR.-	MOU.+	MOU.-
MOR.	37%	(100)	(0)	56%	18%
SAX.	15%	14%	13%	33%	7%
MARQ.	18%	41%	3%	17%	18%
MOU.	30%	60%	20%	(100)	(0)

Figure 1 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES REACTIVITES CROISEES
OBTENUES AVEC LES SERUMS DE PARENTS D'ENFANTS LEUCEMIQUES.



IV/ ANTICORPS CYTOTOXIQUES POUR DES CELLULES LEUCEMIQUES DANS LE SERUM DE MALADES ATTEINTS DE LEUCEMIES AIGUES.

Nous avons systématiquement recherché des anticorps cytotoxiques pour les cellules leucémiques autologues dans le sérum de malades atteints de leucémies aiguës. Cette recherche a été pratiquée exclusivement chez des malades en première phase visible de leur maladie, n'ayant jamais été transfusés et avant toute chimiothérapie. Nous avons étudié les sérums provenant de 58 malades atteints de leucémie aiguë lymphoblastique, 25 malades atteints de leucémie aiguë myéloblastique, 7 atteints de leucémie myélo-monocytaire et 7 atteints de leucémie myéloïde chronique.

C'est seulement chez les malades atteints de leucémie aiguë lymphoblastique que nous avons pu détecter de tels anticorps: les sérums provenant de 10 malades, soit 17% des sérums étudiés contenaient une activité cytotoxique pour les cellules leucémiques autologues. Aucun d'entre eux n'était cytotoxique pour des lymphocytes provenant de donneurs normaux. Tous ces sérums n'ont pu encore être testés en situation allogénique, cependant les résultats obtenus avec 8 d'entre eux sont colligés dans le tableau 7. Ils apparaissent dans leur ensemble réagir de façon assez spécifique avec des cellules de leucémie aiguë lymphoblastique, se superposant en cela aux sérums de parents décrits au chapitre précédent. Ces sérums sont habituellement cytotoxiques pour 30 à 70% des cellules dans les réactions considérées comme positives, et la plupart d'entre eux montrent une prozone aux dilutions 1:1 et 1:2, sans doute en relation avec la présence de complexes antigène-anticorps. Leur titre n'est habituellement pas supérieur au 1:16.

Pour certains malades, qui ne possédaient pas d'anticorps au début de leur maladie, des sérums prélevés en phase de rémission étaient positifs, cette réactivité disparaissant à nouveau au cours d'une rechute. Cependant cette étude n'est pas suffisamment avancée pour que nous puissions déjà en donner les résultats.

Tableau 7 : SPECIFICITE DES SERUMS DE MALADES ATTEINTS DE L.A.L.

	Lymphocytes normaux	L.A.L.	L.A.M.	L.A.M.N.	L.M.C.
THI.	0/34	12/43	3/18	1/7	0/7
LAN.	0/34	18/45	0/19	2/6	1/6
DRO.	0/34	13/26	0/17	0/7	0/4
NAE.	0/34	11/58	0/25	0/7	0/7
BER.	0/34	6/22	2/17	0/7	1/4
VIA.	0/34	9/21	2/17	0/6	1/4
LAR.	0/33	6/11	1/14	0/2	1/4
DEL.	0/33	4/10	2/14	0/4	0/4

V/ ETUDES SEROLOGIQUES FAMILIALES DANS LES LEUCEMIES ET LYMPHOSARCOMES.

V-1/ Expression d'antigènes associés aux leucémies sur les lymphocytes d'individus normaux, parents de leucémiques.

En utilisant les sérums précédemment décrits, nous avons recherché la présence d'antigènes associés aux leucémies à la surface des lymphocytes provenant de 55 personnes, proches parents de malades leucémiques. Cette population était composée de 11 pères, 14 mères, 28 frères ou soeurs, une épouse et une fille de malades leucémiques. Ce groupe de malades comprenait 7 leucémies aiguës lymphoblastiques, une leucémie myéloïde chronique chez un enfant de 4 ans, quatre lymphosarcomes non hodgkiniens et une maladie de Hodgkin.

Cette recherche n'a été positive qu'une seule fois: en effet les lymphocytes du père d'un enfant atteint de leucémie aiguë lymphoblastique ont réagit à deux reprises avec le sérum BON., qui réagissait également avec les cellules leucémiques de l'enfant. Malheureusement, la caractérisation de ce sérum n'est qu'à peine ébauchée (tableau 5), car il est de découverte récente.

Cette observation est particulièrement intéressante par le fait qu'un cousin germain du malade était simultanément atteint de leucémie aiguë lymphoblastique. Cet élément a attiré notre attention sur les cas familiaux de leucémies et sera discuté au §4 de ce chapitre.

V-2/ Expression d'antigènes associés aux leucémies sur les lymphocytes provenant d'un malade avant la phase visible de sa maladie.

Ce malade de 29 ans a été hospitalisé dans le service de Monsieur le Professeur Revol pour une hyperthermie au long cours s'accompagnant d'asthénie intense. La numération formule était alors normale, mais le myélogramme et la biopsie

de moelle permettaient de porter le diagnostic d'insuffisance médullaire qualitative avec infiltration partielle par des cellules souches peu différenciées. En microscopie électronique, ces cellules apparaissaient très immatures, avec de nombreux ribosomes en rosette, sans ergastoplasme et de rares granulations.

A cette période, alors que les éléments du sang périphérique étaient considérés comme cytologiquement normaux, nous avons observé à deux reprises, à deux semaines d'intervalle, l'expression par les lymphocytes de ce malade, des antigènes définis par les sérums MARS., MOU. et SAX. Deux mois plus tard, soit six mois après le début présumé de la maladie, la transformation en leucose aiguë était manifeste, tant au myélogramme qu'à l'examen du sang périphérique. A ce moment de la maladie, aucun antigène n'était plus détectable sur les cellules leucémiques.

Malgré l'aspect cytologique équivoque des cellules blastiques, le diagnostic de leucémie aiguë myéloïde avait été proposé, mais la chimiothérapie de type L.275, habituellement utilisée dans le service pour les leucémies myéloïdes (45), se montrait inefficace. Par contre la mise en route d'un traitement habituellement actif dans les leucémies lymphoblastiques et comportant Asparaginase et Endoxan permettait d'obtenir la rémission hématologique. Il faut noter que notre sérothèque ne comporte actuellement aucun sérum proprement spécifique des leucémies myéloïdes (tableau 10), mais que les trois réactions obtenues sur les lymphocytes de ce malade l'ont été avec les seuls sérums présentant une réactivité à la fois sur les leucémies lymphoblastiques et sur les leucémies myéloblastiques, ce qui pourrait être compatible avec la nature "cellule souche" de cette hémopathie.

Il n'est pas impossible de penser que ces myéloblastoses partielles, dont certaines n'évoluent pas en leucose aiguë, puissent représenter une maladie plus ou moins contrôlée par les défenses immunitaires du malade, bien que dans le cas de ce malade, à aucun moment des anticorps n'aient pu être mis en évidence dans le sérum. La transformation aiguë pourrait dès lors être mise sur le compte d'un phénomène

d'échappement, ou de sélection antigénique des cellules leucémiques, ce qui permettrait d'expliquer que des antigènes associés aux leucémies, détectables en phase précoce, ne soient pas retrouvés en phase leucémique vraie.

Il est cependant prématuré d'étendre ces conclusions aux myéloblastoses partielles en général, d'autant qu'il s'agissait par ailleurs d'une famille particulière, en ce que le père du malade était décédé deux ans plus tôt d'un lymphosarcome et que le fils du malade était également décédé un an auparavant d'une leucémie aiguë lymphoblastique. Ainsi l'expression d'antigènes associés aux leucémies par les lymphocytes de ce malade pourrait également correspondre à la traduction d'une sensibilité familiale aux hémopathies malignes. Dans le cadre de l'étude rapportée au paragraphe précédent, nous avons également étudié l'épouse et la fille de ce malade; aucune d'entre elles n'exprimait d'antigènes associés aux leucémies sur ses lymphocytes, ni ne possédait d'anticorps dirigés contre les leucémies dans son sérum.

V-3/ Etude de la famille d'un enfant atteint de lymphosarcome immunoblastique.

Nous avons eu l'occasion d'étudier la famille (2 parents et 7 frères et soeurs) d'un enfant de 18 mois hospitalisé dans le service de Monsieur le Professeur Jeune à l'hôpital Debrousse pour un lymphosarcome immunoblastique et dont deux soeurs étaient précédemment décédées d'affections hématologiques dont le diagnostic n'a pu être précisé.

Les cellules tumorales du malade (Salah), obtenues par biopsie ganglionnaire exprimaient les antigènes définis par les sérums MARS., SAX., MOR. et NAE. Aucun de ces 4 sérums n'a réagi avec les lymphocytes des autres membres de la famille.

Des anticorps cytotoxiques pour les cellules tumorales du malade ont été trouvés dans son propre sérum et dans celui de son frère Daoud âgé de 9 ans. Le sérum de Salah a, en outre, montré une légère activité sur les lymphocytes normaux de deux de ses frères (Abdesselem, 15 ans et

Abdelali, 9 ans). Le tableau 4 montre que l'activité cytotoxique des sérums de Salah et Daoud est abolie par absorption sur les cellules tumorales de Salah et que celle du sérum de Salah l'est en outre par les lymphocytes d'Abdesselem et Abdelali. L'absorption de ces deux sérums sur les lymphocytes des parents n'affecte pas leur réactivité, ce qui suggère que des anticorps dirigés contre des antigènes ABO, MN ou HL-A ne sont pas responsables de cette activité.

V-4/ Discussion

Ces études indiquent que les antigènes associés aux leucémies aiguës peuvent être détectés à la surface de cellules de lymphosarcomes, et même sur les lymphocytes d'individus normaux, parents de malades. Il faut noter que, comme c'était le cas dans l'observation de Pendergrass et coll. (110), nous n'avons pu retrouver un tel phénomène que dans des familles où plusieurs cas d'affections hématologiques malignes avaient été observés. La signification de ces faits n'est pas encore établie; cependant on a pu penser que l'expression d'antigènes associés aux leucémies sur des cellules provenant d'individus considérés comme normaux, tant sur le plan clinique que biologique pouvait refléter un état précancéreux, mais aucun argument ne permet de confirmer cette hypothèse. Il semble par ailleurs que l'expression de ces antigènes chez des individus normaux puisse n'être que transitoire (Pendergrass, communication personnelle). Par contre, l'hypothèse que ces antigènes puissent traduire la présence d'un éventuel agent infectieux de faible infectivité ne peut être écartée. On pourrait dès lors concevoir que cet agent puisse revêtir une expression différente, en fonction par exemple du terrain génétique et on peut proposer quelques modalités théoriques de son expression:

1- Certains individus peuvent, bien sûr, ne pas avoir été en contact avec cet hypothétique agent, ou bien le contact s'est effectué sans qu'aucune trace n'en persiste.

2- Chez d'autres, cet agent aura occasionné la synthèse d'anticorps dirigés contre des antigènes

dont on ne peut encore prédire s'ils sont viraux ou viro-induits.

3- Dans certaines familles dont on pourrait qualifier le terrain génétique de permissif, cet agent permettrait l'expression d'antigènes associés aux leucémies, indépendamment du processus de leucémogénèse.

4- Enfin, dernière modalité, cet agent pourrait s'exprimer au cours de la maladie, voire en être responsable.

En ce qui concerne l'expression de ces antigènes par les cellules normales de malades atteints de myéloblastose partielle, on peut espérer, malgré le caractère très préliminaire de nos constatations, qu'elle puisse permettre de distinguer ceux des malades qui vont évoluer vers une leucémie aiguë et qu'il conviendrait peut-être de traiter précocement, de ceux pour lesquels une évolution lente et sur un mode bénin semble possible.

Tableau 4 : ETUDE PAR ABSORPTION DE LA SPECIFICITE DES
SERUMS DE SALAH ET DAOUD.

SERUM de	ACTIVITE CYTOTOXIQUE CONTRE LES CELLULES TUMORALES DE SALAH	
	Absorbée par les cellules de	Non absorbée par les cellules de
SALAH	SALAH (cellules tumorales)	
	ABDESSELEM (A1,M.M,2.9/W18.W18)	PERE (A1,M.N,2.9/12.W18)
	ABDELALI (A1,M.N,2.10/5.12)	MERE (A1,M.N,2.10/5.W18)
DAOUD	SALAH (cellules tumorales)	Père, mère, Abdessalem, Abdelali

Les groupes sanguins et leucocytaires des cellules utilisées pour l'absorption sont indiqués entre parenthèses- SALAH : A1,M.M,9.10/5.W18 ; DAOUD : O,M.M,2.2/12.W18.

VI/ TENTATIVE D'UTILISATION "IN VIVO" DE CES ANTISERUMS A TITRE
THERAPEUTIQUE EXPERIMENTAL : à propos de deux observations.

VI-1/ Observation n°1 : Enfant MOU...

Cette enfant de 8 ans et demi est admise dans le service de Monsieur le Professeur Jeune le 6 décembre 1974. Le diagnostic de leucémie aiguë myéloblastique est porté sur des éléments cliniques et hématologiques absolument typiques. La numération montre 9.000 globules blancs par mm^3 dont 76% sont des myéloblastes contenant des batonnets d'Auer. L'état d'avancement de nos travaux ne nous avait pas alors permis d'obtenir un typage sérologique de ces cellules, cependant il avait pu être montré que le sérum du père de l'enfant contenait une activité cytotoxique pour ces cellules. Ce sérum est le sérum MOU. dont la réactivité vis à vis de cellules de malades non apparentés est détaillée au chapitre III ainsi que dans le tableau 5. Parallèlement, nous avons pu démontrer que cet anticorps était également détectable par une technique d'immunofluorescence indirecte utilisant un sérum de chèvre anti immunoglobulines humaines conjugué à la fluoresceine. 15% des cellules leucémiques de l'enfant étaient alors marquées.

Une rémission a été rapidement induite chez cette malade par une polychimiothérapie comportant Rubidomycine, Methotrexate, Methylglyoxal et Cytosine. Au cours de la phase de rémission qui a duré 10 mois, avec une cure mensuelle de chimiothérapie complémentaire et entre chaque cure 3 injections intradermiques de B.C.G., nous avons pu, à deux reprises, vérifier la négativité du sérum du père sur les lymphocytes de l'enfant, excluant ainsi la possibilité que des anticorps dirigés contre des antigènes des systèmes ABO ou HL-A puissent être en cause dans les réactions observées.

Dès le mois d'août 1975, on notait l'émergence progressive d'un clone leucémique, des myélogrammes successifs montrant un petit contingent (5 à 15%) de cellules pathologiques. Ceci ne permettait pas d'affirmer la rechute, mais dans

le doute, un nouvel assaut de chimiothérapie était pratiqué en septembre. Malgré cela, la rechute était manifeste le 13 octobre 1975, et on pouvait parler alors de chimiorésistance. Une étude des myéloblastes de l'enfant, pratiquée à ce moment, avait montré des résultats un peu différents de ceux obtenus lors de la première phase visible: le sérum du père semblait avoir perdu une partie de sa réactivité dans le test de micocytotoxicité, mais conservait une réactivité en immunofluorescence indirecte.

Devant ces éléments, il fut décidé de transfuser à l'enfant du plasma provenant de son père. L'enfant reçut donc une première transfusion de 100 ml, suivie 24 heures plus tard d'une nouvelle transfusion de 60 ml de plasma prélevé à son père par plasmaphérèse.

Incidences cliniques de ces transfusions.

Les transfusions furent bien supportées et on ne nota aucun incident; la température de l'enfant resta normale. Le nombre absolu des myéloblastes dans le sang a évolué comme suit (fig.2):

3 jours avant la 1ère transfusion	:	5.000/mm ³
2 heures " " "	:	10.500/mm ³
3 heures après " "	:	10.900/mm ³
6 heures " "	:	21.600
20 heures " "	:	16.500
3 heures après la 2ème transfusion	:	21.750/mm ³
6 heures " " "	:	20.000
20 heures " "	:	15.700

Etude immunologique. (tableaux 8 et 9)

Les myéloblastes circulants de l'enfant ont été prélevés avant et après chacune des transfusions, et leurs caractéristiques comparées. Après ces transfusions, il était possible de démontrer une couverture de ces cellules par des immunoglobulines, à la fois par un test d'immunofluorescence directe et par un test de consommation d'un sérum anti-immuno-

-globulines. La recherche des allotypes de ces immunoglobulines fixées sur les blastes ne permettait pas de conclure définitivement quant à leur origine paternelle, cependant l'absence du marqueur Gm 5 semblait indiquer qu'il ne s'agissait pas d'immunoglobulines de l'enfant.

Evolution de la maladie.

Deux nouvelles cures de chimiothérapie devaient par la suite être entreprises, mais sans résultat et l'enfant décédait le 28/12/1975.

VI-2/ Observation n°2 : Enfant MOR...

Cette enfant de 16 ans était admise dans le service de Monsieur le Professeur Revol en avril 1975 et présentait une leucémie aiguë lymphoblastique hyperleucocytaire et tumorale, mais qui ne possédait aucun caractère T ou B, eu égard aux tests pratiqués (immunoglobulines de membrane et rosettes E.).

La rémission clinique et hématologique était facilement obtenue après quatre injections d'Oncovin, et le traitement cytoréducteur complémentaire entrepris. Après une période de rémission de 10 mois, sans incident notable autre qu'un zona, l'enfant était rehospitalisée en février 76, en rechute médullaire. Plusieurs associations chimiothérapiques ne permettaient d'obtenir que des rémissions incomplètes et transitoires, et le 1er juin 1976 une nouvelle rechute massive était constatée, dont les cellules, étudiées de façon plus complète ne présentaient toujours aucun des caractères T ou B. Devant l'inefficacité de la chimiothérapie, il fut décidé de transfuser l'enfant avec un plasma connu pour contenir des anticorps dirigés contre les antigènes associés aux leucémies.

Typage sérologique des cellules leucémiques.

Les cellules leucémiques de la première phase visible de la maladie (avril 1975) exprimaient les antigènes reconnus par les sérums NAE., MARQ. et MARS. et étaient par ailleurs tuées par les sérums du père et de la mère de

l'enfant. Par contre les cellules obtenues au cours de la rémission (15/5/75 et 7/4/76) n'exprimaient plus ces antigènes, ce qui permettait de penser que des antigènes associés aux leucémies étaient bien en cause dans les réactions observées; les réactivités des sérums du père et de la mère de l'enfant sont détaillées au chapitre III et dans le tableau 5.

En juin 76, lors de la dernière rechute, les cellules leucémiques n'exprimaient plus du tout les antigènes NAE. et MARQ., et n'étaient que faiblement réactives avec le sérum MARS. (moins de 50% de cellules tuées) dont un prélèvement récent était même complètement négatif; par contre, un prélèvement récemment obtenu du donneur LAT. (qui n'avait pas été testé lors de la première phase visible) était positif. Le sérum du père de l'enfant était alors négatif, mais celui de la mère, ainsi qu'un prélèvement de sérum de l'enfant elle-même, obtenu en rémission, montraient une activité contre ces cellules.

Transfusion de plasma "anti-antigènes associés aux leucémies"

Les données de l'analyse sérologique des cellules de la rechute permettaient d'utiliser indifféremment pour cette transfusion le plasma de la mère de l'enfant ou celui du donneur LAT. Devant l'absence d'effet clinique constatée dans l'observation précédente, et devant la notion que le sérum LAT. avait déjà montré une certaine efficacité clinique (cf. circonstances de découvertes de ce sérum), l'enfant reçut le 1/07/76 150 ml de plasma du donneur LAT.

La transfusion fut bien supportée par la malade, mais trois heures plus tard on pouvait noter un clocher thermique à 39°5, la température devant par la suite rester en plateau à 38°5 pendant trois jours. La numération formule a été contrôlée à intervalles réguliers : le nombre des lymphoblastes, à 176.000/mm³ avant la transfusion est tombé à 109.000 au cours des premières 24 heures, puis est resté relativement stable à ce niveau pendant 5 jours (fig.3). Les dosages de l'uricémie et des taux de LDH, pratiqués à la recherche d'un syndrome biologique de lyse cellulaire, se sont

avérés ininterprétables car très supérieurs à la normale avant la transfusion.

Il semble donc, toute thérapeutique spécifique ayant été arrêtée 24 heures avant cette transfusion, que la diminution du nombre de cellules leucémiques dans le sang puisse être due à cette transfusion, bien que, contrairement à l'observation précédente, il ne nous ait pas été possible de démontrer l'existence d'une couverture par des immunoglobulines des cellules obtenues 24 heures après la transfusion.

Le 5/07/76, l'état de l'enfant nécessitant une transfusion de sang complet (Hb: 5,5 g/100 ml) et un flacon provenant du donneur MARS. étant disponible au centre de transfusion, il fut décidé d'utiliser ce flacon, en quelque sorte à titre de témoin négatif, ce donneur ne présentant plus alors d'activité cytotoxique in vitro pour les cellules de l'enfant. Cette transfusion, qui corrigea bien sûr l'anémie de l'enfant, resta sans effet sur sa courbe de température ni sur la numération sanguine (fig.3), et la malade décéda le 7/07/76, alors que la prolifération lymphoblastique avait repris.

VI-3/ Discussion.

Il n'est actuellement pas possible d'affirmer que l'effet "anti-leucémique" de certaines transfusions, qui avait été rapporté dès 1947 (13;29) soit en relation avec l'existence dans certains sérums d'anticorps dirigés contre des antigènes associés aux leucémies. Il est également difficile, si tel était le cas de comprendre le mécanisme d'action de ces anticorps in vivo; il apparaît peu probable en effet qu'ils puissent agir par l'intermédiaire du système du complément, car les concentrations d'anticorps qu'il faudrait atteindre pour être actif sont incompatibles avec les quantités de plasma transfusées. De plus les concentrations plasmatiques du complément sont limitantes chez l'homme, même si on admet que la transfusion elle-même peut apporter une certaine quantité de complément actif. D'autre part,

l'hypothèse que ces anticorps puissent agir par l'intermédiaire des cellules K suppose que ces malades, totalement envahis par des cellules leucémiques conservent des cellules K fonctionnelles, ce qui à notre connaissance, n'a pas été démontré.

Il est cependant remarquable que la première observation, ainsi que la transfusion "contrôle" de la deuxième observation, correspondaient toutes deux à l'utilisation de plasmas dont l'activité cytotoxique n'était plus détectable in vitro sur les cellules du malade. Quel que soit donc le mécanisme d'action in vivo de ces anticorps, il semble, malgré le caractère très préliminaire de ces observations, qu'une certaine corrélation puisse être établie entre l'activité cytotoxique in vitro d'un sérum dirigé contre des antigènes associés aux leucémies et un certain effet in vivo.

Figure 2 : Enfant MOU. EVOLUTION DU NOMBRE DE MYELOBLASTES SANGUINS APRES TRANSFUSION .

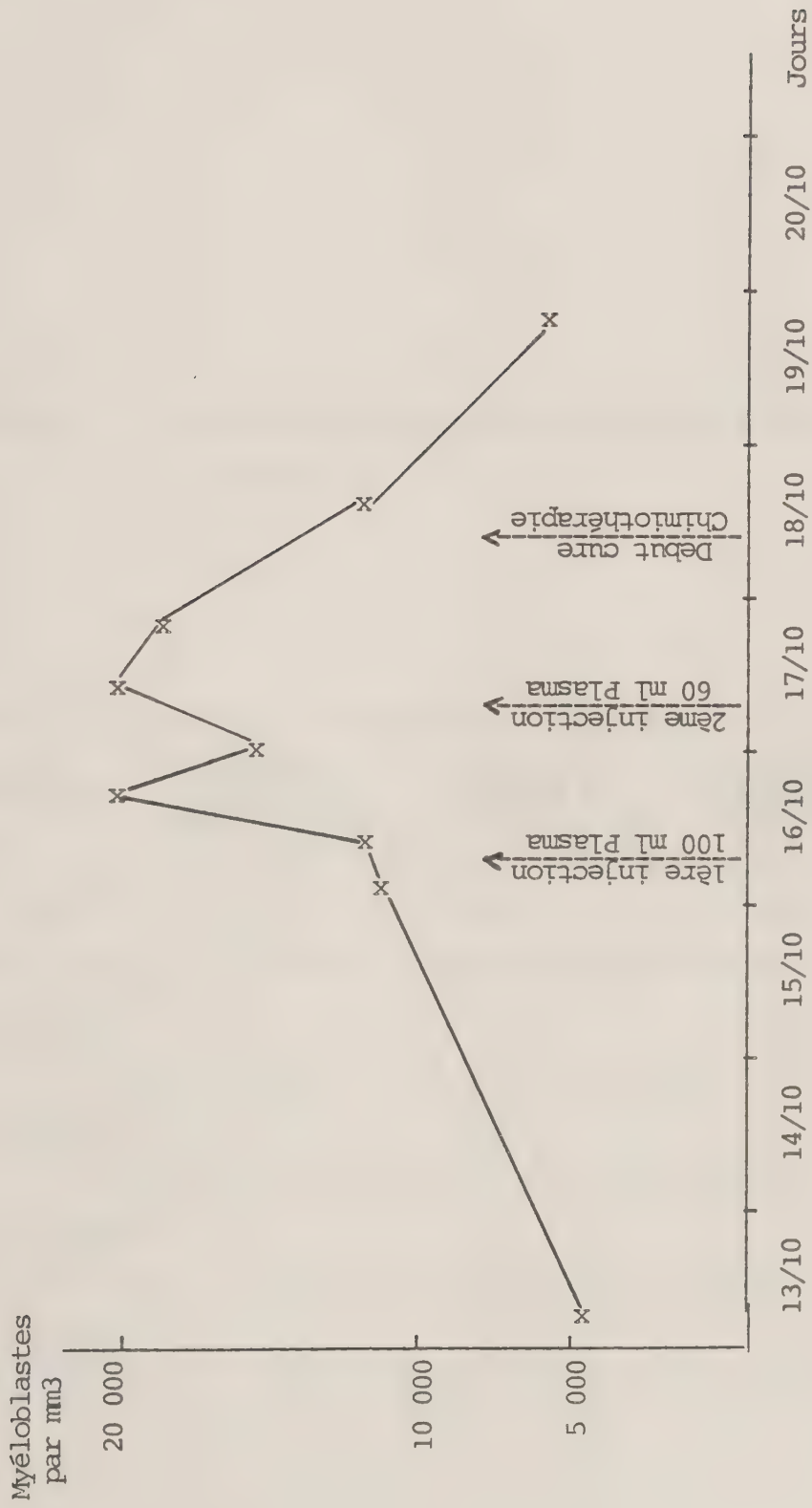


Tableau 8 : ETUDE EN IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE DES CELLULES
DE L'ENFANT MOU.

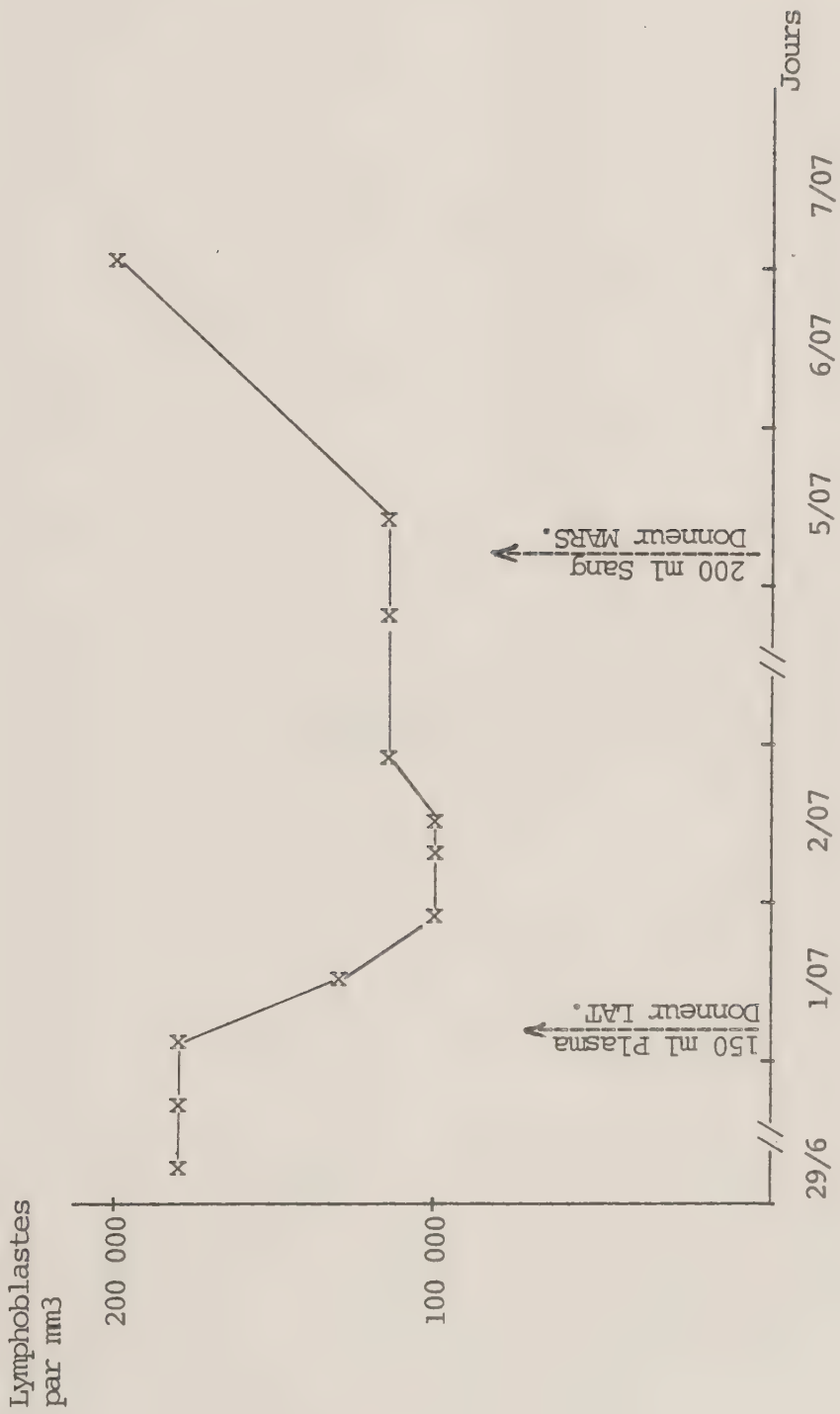
CELLULES OBTENUES LE:	% CELLULES MARQUEES PAR SERUM POLYVALENT	% CELLULES MARQUEES PAR SERUM anti-IgG	% CELLULES MARQUEES PAR SERUM anti-IgM
15.X.75	inf. 2	N.T.	N.T.
16.X.75 avant transfusion	inf. 2	1	0
16.X.75 2 H. après transfusion	6	7	0
17.X.75 avant transfusion	3	1	0
17.X.75 après transfusion	6,4	4,9	0,5

Tableau 9 : MISE EN EVIDENCE ET TYPAGE Gm D'IMMUNOGLOBULINES A LA SURFACE DES CELLULES DE L'ENFANT MOU.

ANTISERUM	ABSORBE SUR CELLULES DU :	TITRAGE						
		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
ANTIGLOBULINE LARGE SPECTRE	15.X.75	+++	++	+	-	-	-	-
	16.X.75 après transfusion	-	-	-	-	-	-	-
ANTI-Gm 1	NON ABSORBE	+++	+++	+++	+++	+++	+	-
	17.X.75 avant transfusion	+++	+++	+++	++	+	-	-
	17.X.75 après transfusion	+++	+++	+++	++	(+)	-	-
ANTI-Gm 5	NON ABSORBE	++	++	+	-	-	-	-
	17.X.75 avant transfusion	++	++	+	-	-	-	-
	17.X.75 après transfusion	++	++	+	-	-	-	-

Phénotype Gm des immunoglobulines du père : Gm (1,2,-4,-5,-10,-11,21)
Phénotype Gm des immunoglobulines de l'enfant : Gm (1,2,4,5,10,11,21)

Figure 3 : Enfant MOR. EVOLUTION DU NOMBRE DE LYMPHOBLASTES SANGUINS APRES TRANSFUSION



- DISCUSSION -

Ainsi il semble aujourd'hui bien établi que les cellules leucémiques humaines expriment des structures antigéniques pour différentes espèces animales, mais aussi pour l'homme. La combinaison de plusieurs antisérums obtenus chez l'animal permet actuellement de faire, à l'aveugle, le diagnostic de leucémie, en précisant son type cytologique, par un simple test de microcytotoxicité en présence de complément. Les sérums de typage d'origine humaine, qui permettraient d'effectuer ce diagnostic avec la même précision, sont encore rares et ne couvrent pas la totalité des variétés de leucémies. Il apparaît en outre que leurs réactivités ne sont pas complètement superposables à celles des sérums animaux. Un effort particulier devra donc être fait pour rechercher et caractériser des sérums de typage d'origine humaine, puisque, a priori, ils permettent d'aborder l'étude des antigènes associés aux leucémies immunogènes pour l'homme, c'est à dire ceux qui présentent un intérêt pour le développement des méthodes d'investigation immunologique des malades et de l'immunothérapie. La mise en évidence d'anticorps réagissant avec des cellules leucémiques dans le sérum d'individus normaux semble représenter une voie d'abord nouvelle et prometteuse; en effet, de tels sérums sont actuellement mis en évidence par de rares réactions transfusionnelles, mais il est logique de penser que de tels individus ne doivent pas être rares dans la population normale, ainsi que tendrait à l'indiquer les résultats de l'étude des familles de malades. En outre, les sérums de malades, et peut-être surtout ceux des malades activement immunisés à des fins thérapeutiques compléteront utilement cette panoplie.

Le tableau 10 fait apparaître la distribution sur les principaux types de leucémies, des antigènes définis par les sérums que nous avons étudiés. Il est remarquable que les antigènes définis par les sérums provenant de malades atteints de leucémie aiguë lymphoblastique semblent ne pas être exprimés sur les cellules provenant d'autres types de leucémies. Par contre, les sérums de parents de malades et de donneurs normaux possèdent une spécificité plus large, cependant limitée aux leucémies aiguës, simplement étendue

aux leucémies myéloïdes chroniques en ce qui concerne le sérum du père d'un enfant atteint de leucémie aiguë myéloblastique. La réactivité du sérum MARS. avec des cellules de crise blastique de leucémie myéloïde chronique n'est pas simple à interpréter : on serait en effet tenté de la relier à celle observée sur les leucémies aiguës myéloblastiques, mais le caractère parfois "lymphoïde" de ces cellules ne permet pas d'écarter l'hypothèse que des antigènes plus spécifiquement associés aux leucémies lymphoblastiques puissent être exprimés par les leucémies myéloïdes chroniques au moment de leur acutisation. Seules des études en absorption permettront de répondre à cette question.

Les réactivités de ces sérums sont en fait complexes et l'analyse de leurs fréquences relatives montre que certains d'entre eux peuvent révéler plusieurs spécificités antigéniques. Ceci permet de penser, par exemple, que la réactivité du sérum MARS. sur les leucémies lymphoblastiques et les leucémies myéloblastiques ne signifie pas obligatoirement l'existence d'un antigène commun à ces deux variétés de leucémies, mais pourrait être due à la présence dans ce sérum d'au moins deux anticorps de spécificité différente.

Nous avons cherché à approfondir les relations existant entre les différents sérums, supposant que certains d'entre eux pouvaient révéler les mêmes structures antigéniques. Nous avons limité pour le moment cette analyse au groupe des leucémies aiguës lymphoblastiques, dans lequel nous avons pratiqué le plus grand nombre de tests. Nous avons soumis à un test de X^2 , à l'intérieur de chacun des couples formés par deux quelconques de nos sérums, l'hypothèse d'une éventuelle association des deux antigènes définis par ces sérums. Le tableau 11 donne les valeurs de X^2 pour chacun des couples ainsi formés et le seuil de leur signification statistique; il permet de postuler l'existence, au sein des leucémies aiguës lymphoblastiques, de cinq spécificités antigéniques différentes, et de définir, pour chaque sérum, le nombre de spécificités reconnues.

Par exemple, le sérum MARS. est significativement associé aux sérums LAN. et MOR., lesquels ne sont pas associés

l'un à l'autre. Si on émet l'hypothèse que les sérums LAN. et MOR. sont monospécifiques, alors le sérum MARS. possède deux spécificités. Pour les mêmes raisons le sérum MOU. posséderait ces deux mêmes spécificités. Les cinq spécificités ainsi reconnues peuvent être appelées A,B,C,D,E, et on aurait alors:

A, reconnue par les sérums MARS., MOR., MOU.

B, reconnue par les sérums MARS., MOU., LAN.

C, reconnue par les sérums MOR., MARQ., NAE.

D, reconnue par les sérums DRO., NAE., VIA.

E, reconnue par le seul sérum SAX.

A l'inverse, on pourra noter les spécificités reconnues par chacun des sérums et on obtiendra:

MARS. reconnaît A et B

MOR. reconnaît A et C

MARQ. reconnaît C

MOU. reconnaît A et B

SAX. reconnaît E

LAN. reconnaît B

DRO. reconnaît D

NAE. reconnaît C et D

VIA. reconnaît D

Cette analyse statistique n'a pas la prétention de définir complètement le nombre et la nature des antigènes associés aux leucémies aiguës lymphoblastiques, mais elle doit nous permettre de diriger des études par absorption qui seules sont indiscutables pour établir l'identité de deux antigènes.

Cette étude n'est bien entendu pas terminée et suggère qu'il reste plus à faire que ce qui a été fait; par exemple, il est encore impossible d'affirmer que tous ces antigènes sont spécifiquement associés aux leucémies, et notamment, tous ces sérums n'ayant encore pu être testés sur des cellules B purifiées, l'hypothèse que certains d'entre eux possèdent des anticorps anti-B devra être étudiée; cela pourrait être le cas du sérum SAX., qui dans le cadre de cette analyse n'est significativement corrélé à aucun des autres sérums.

Tableau 10 : DISTRIBUTION DES ANTIGENES DEFINIS
PAR LES DIFFERENTS SERUMS UTILISES .

SERUMS	ORIGINE	L.A.L.	L.A.M. et L.A.M.M.	L.L.C.	L.M.C.	L.M.C.-C.B.
MARS.	Donneur normal	+	+	-	-	+
LAT.	Donneur normal	+	-	-	-	-
MARQ.	Père de L.A.L.	+	-	-	-	-
SAX.	Père de L.A.L.	+	+	-	-	-
MOU.	Père de L.A.M.	+	+	-	+	-
MOR.	Père de L.A.L.	+	-	-	-	-
BON.	Mère de L.A.L.	+	+	-	-	-
THI.	Malade L.A.L.	+	+	-	-	-
LAN.	Malade L.A.L.	+	-	-	-	-
DRO.	Malade L.A.L.	+	-	-	-	-
NAE.	Malade L.A.L.	+	-	-	-	-
BER.	Malade L.A.L.	+	-	-	-	-
VIA	Malade L.A.L.	+	-	-	-	-
LAR.	Malade L.A.L.	+	-	-	-	-
DEL.	Malade L.A.L.	+	-	-	-	-

Tableau 11 : RECHERCHE D'UNE ASSOCIATION ENTRE LES REACTIVITES DES
DIFFERENTS SERUMS : Valeurs du X2 obtenu dans chaque couple.

	VIA	NAE	DRO	LAN	SAX	MOU	MARQ	MOR
MARS	1,944 ns	0,565 ns	0,866 ns	7,171 p<0,01	0,186 ns	4,968 p<0,02	3,188 ns	6,486 p<0,02
MOR	2,036 ns	10,032 p<0,01	2,716 ns	1,506 ns	0,007 ns	7,351 p<0,01	8,817 p<0,01	
MARQ	2,084 ns	4,267 p<0,04	1,181 ns	0,057 ns	0,921 ns	0,003 ns		
MOU	0,063 ns	0,092 ns	0,157 ns	10,545 p<0,01	3,378 ns			
SAX	0,021 ns	0,410 ns	0,866 ns	2,912 ns				
LAN	2,036 ns	0,152 ns	0,722 ns					
DRO	4,413 p<0,04	3,960 p<0,05						
NAE	4,021 p<0,05							

Les valeurs de X2 apparaissant en italique correspondent aux X2 corrigés selon la méthode de YATES pour les petits échantillons.

- CONCLUSIONS -

1- L'étude bibliographique des données concernant la sérologie des antigènes associés aux leucémies humaines met en évidence l'existence de deux voies d'abord de ce problème. L'utilisation d'antisérums animaux apparaît d'ores et déjà fonctionnelle: les antisérums obtenus chez le lapin décèlent des structures antigéniques communes à plusieurs variétés cytologiques de leucémies, alors que les antisérums produits chez le singe sont capables de différencier les leucémies lymphoïdes des leucémies myéloïdes.

A l'opposé, les sérums humains réagissant avec les cellules de leucémies sont encore rares et apparaissent réagir de façon assez différente : ils ne "couvrent" pas toutes les variétés de leucémies et semblent détecter plusieurs spécificités antigéniques à l'intérieur d'un même type cytologique.

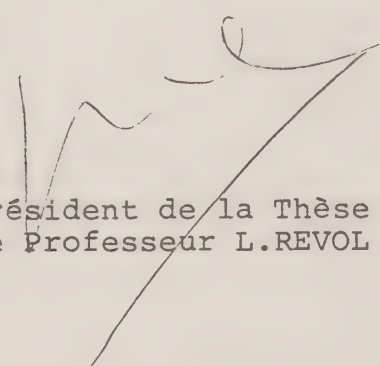
2- En complément de ce rappel bibliographique, nous rapportons les résultats de travaux personnels concernant la mise en évidence d'anticorps cytotoxiques pour des cellules leucémiques dans des sérums humains, et permettant un début de typage des leucémies humaines par leur antigénicité. Nous avons découvert de tels sérums aussi bien chez des malades, que chez des individus normaux, parents de leucémiques ou non.

Ces sérums nous ont ensuite permis de démontrer que certaines cellules normales, provenant notamment de parents de malades, pouvaient exprimer de tels antigènes, sans que la signification de ce phénomène puisse être actuellement établie.

Nous rapportons enfin deux observations de malades pour lesquels nous avons pu, en phase terminale de la maladie, infuser du plasma, provenant de donneurs normaux qui présentaient une activité antileucémique. Dans un cas, des évidences biologiques de fixation de ces anticorps sur les cellules leucémiques ont pu être obtenues, indépendamment de tout effet clinique. Dans l'autre cas, une réduction modérée et transitoire du nombre de lymphoblastes sanguins a pu être obtenue, mais il n'était pas

possible de démontrer la présence d'anticorps fixés sur les cellules.

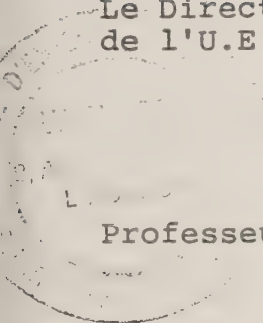
Ainsi, les cellules de certaines leucémies, leucémies aiguës lymphoblastiques surtout, semblent bien posséder des antigènes susceptibles de provoquer chez l'homme l'élaboration d'anticorps dont le rôle éventuel dans le contrôle de la maladie reste à préciser, mais qui pourraient, à l'avenir, être utilisés à des fins diagnostiques, voire thérapeutiques.



Le Président de la Thèse
M. le Professeur L. REVOL

VU et PERMIS D'IMPRIMER
LYON, le ~~22/12/75~~ 30 DEC. 1976

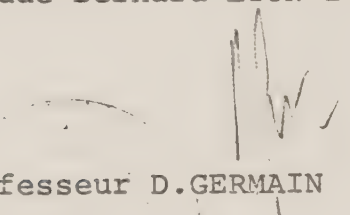
Le Président de l'Université
Claude-Bernard LYON I



Le Directeur
de l'U.E.R. LYON-NORD



Professeur J.P. GARIN



Professeur D. GERMAIN

- BIBLIOGRAPHIE -

1. BAKER, M.A., FALK, R.E., FALK, J. et GREAVES, M.F. (1976) Detection of monocyte specific antigen on human acute leukemia cells. *Brit. J. Haematol.*, 32, 13-20.
2. BAKER, M.A., RAMACHANDAR, K. et TAUB, R.N. (1974) Specificity of heteroantisera to human acute leukemia associated antigen. *J. Clin. Invest.*, 54, 1273-1278.
3. BAKER, M.A. et TAUB, R.N. (1973) Production of antiserum in mice to human leukemia associated antigens. *Nature (New Biol.)* 241, 93-94.
4. BAKER, M.A. et TAUB, R.N. (1976) Platelet induced tolerance in the production of heteroantisera to human leukemia associated antigens. *J. Immunol. Methods*, 10, 171-175.
5. BATES, H.A., BANKOLE, R.O. et SWAIM, W.R. (1969) Immunofluorescence studies in human leukemia. *Blood*, 34, 430-440.
6. BELPOMME, D., LEBORGNE DE KAOUEL, C., AJURIA, E., JASMIN, C. et DORE, J.F. (1969) Increase in antigenicity of permanent tissue culture lines ICI 101, ICI 104 and ICI 202 established from human leukaemic blood. *Nature (Lond.)*, 222, 890.
7. BELPOMME, D., SEMAN, G., DORE, J.F., VENUAT, A.M., BERUMEN, L., LEBORGNE DE KAOUEL, C. et MATHE, G. (1969) Established cell line (ICI 101) obtained from frozen human lymphoblastic leukaemia cells; morphological and immunological comparison with the patient's fresh cells. *Europ. J. Cancer*, 1, 55-59.
8. BENTWICH, Z., WEISS, D.W., SULITZEANU, D., KEDAR, E., IZAK, G., COHEN, I. et AYAL, O. (1972) Antigenic changes on the surface of lymphocytes from patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Cancer Res.*, 32, 1375-1383.
9. BERNARD, J. (1965) Long duration of complete remission in acute leukemia. *Cancer Res.*, 25, 1673-1674.
10. BERTOGLIO, J., SOUILLET, G., PHILIPPE, N. et DORE, J.F. Anticorps dirigés les cellules leucémiques dans le sérum de parents d'enfants leucémiques. En préparation.
11. BERTOGLIO, J., DORE, J.F. et SOUILLET, G. (1976) Leukaemia associated antigens and related antibodies in the family of a lymphoma patient. *Lancet*, ii, 204-205.
12. BERTOGLIO, J. et DORE, J.F. (1976) Identification de sous-populations de lymphocytes humains par certains marqueurs de surface. In: *Techniques de séparation et d'identification des lymphocytes humains*, 1 vol. INSERM, 57, 89-95.
13. BESSIS, M. et BERNARD, J. (1947) Remarquables résultats du traitement par exsanguino-transfusion d'un cas de leucémie aiguë. *Bull. Soc. méd. Hôp. Paris*, 63, 871-876.

14. BIAS, W.B., SANTOS, G.W., BURKE, P.J., MULLINS, P.J. et HUMPHREY, R.L. Cytotoxic antibody in normal human serums reactive with tumor cells from lymphocytic leukemia. (1972) *Science*, 178, 304-308.
15. BILLING, R. et TERASAKI, T.I. (1974) Human leukemia antigen. I.-Production and characterization of antisera
J.Natl.Cancer Inst., 53, 1635-1638.
16. BILLING, R. (1976) The absence of B-cell antigen B2 from leukemia cells and lymphoblastoid cell lines. *Lancet*, i, 1365.
17. BILLING, R., RAFIZADEH, B., DREW, I., HARTMAN, G., GALE, R. et TERASAKI, P. (1976) Human B lymphocyte antigens expressed by lymphocytic and myelocytic leukemia cells. I.-Detection by rabbit antisera. *J.Exp.Med.*, 144, 167-178.
18. BILLINGHAM, R.E. et SILVERS, W.K. (1968) The use of tolerance to reduce the complexity of reactions to antigens mixtures. *Cancer Res.*, 28, 1404-1408.
19. BOYUM, A. (1968) Separation of leucocytes from blood and bone marrow. *Scand.J.Clin.Labo.Invest.*, suppl.21, 97.
20. BROUET, J.C., VALENSI, F., DANIEL, M.T., FLANDRIN, G., PREUD'HOMME, J.L. et SELIGMANN, M. (1976) Immunological classification of acute lymphoblastic leukemias: evaluation of its clinical signification in a hundred patients. *Brit.J.Haematol*, 33, 319-328.
21. BROWN, G., CAPELLARO, D. et GREAVES, M. (1975) Leukemia associated antigens in man. *J.Natl.Cancer Inst.*, 55, 1281-1290.
22. BROWN, G., HOGG, N. et GREAVES, M. (1975) Candidate leukemia specific antigen in man. *Nature(Lond.)*, 258, 454.
23. BURCHENAL, J.M. et MURPHY, M.L. (1965) Long term survivors in acute leukemia. *Cancer Res.*, 25, 1491-1494.
24. BURKETT, L.L., FIELDS, M.L. et DIGGS, L.W. (1965) A possible immune reaction producing spontaneous remission in leukemia. *Blood*, 25, 541-547.
25. CHAN, E., PETERS, W.P., SWEET, R.W., OHNO, T., KUFE, D.W., SPIEGELMAN, S., GALLO, R.C. et GALLACHER, R.E. (1976) Characterization of a virus (HL23V) isolated from cultured acute myelogenous leukemic cells. *Nature*, 260, 266-268.
26. CHECHIK, E. et GELFAND, E.W. (1976) Leukemia associated antigen in serum of patients with acute lymphoblastic leukemia. *Lancet*, i, 166-168.
27. CIKES, M. (1970) Relationship between growth rate, cell volume, cell cycle kinetics and antigenic properties of cultured murine lymphoma cells. *J.Natl.Cancer Inst.*, 45, 979-988.

- 28.COHEN,E.,GREGORY,S.G.,WEINREB,N. et MINOWADA,J. (1976) Antibodies to leukemia associated antigens in sera of plasmapheresis donors. Cancer,sous presse.
- 29.CROIZAT,P.,REVOL,L. et MOREL,P. (1948) Les exsanguino-transfusion dans les leucémies:essai d'application aux leucémies myéloïdes chroniques. Le Sang,19,532-538.
- 30.CULLEN,P.R. et MASON,Y. (1974) Leukemia associated antigens in man:detection by antibody in maternal sera. Clin.Exp.Immunol.,17,571-586.
- 31.DAUSSET,J. et BRECY,H. (1958) Test direct de consommation de l'antiglobuline sur les leucocytes et les plaquettes de certains malades atteints de pancytopenies idiopathiques. Vox Sang.(Basel),3,197-202.
- 32.DE CARVALHO,S. (1964) Identity of reaction of an autologous antibody in leukemic children in remission with a heterologous antibody produced antileukemic antigen. Proc.Amer.Ass Cancer Res.,5,14.
- 33.DE CARVALHO,S. (1963) Preliminary experimentation with specific immunotherapy of neoplastic disease in man. I.-Immediate effects of hyperimmune equine gammaglobulins Cancer,16,306-330.
- 34.DICKSON,A. (1972) Lymphocytotoxins in leukemia. Brit.Med.J.,4,209-211.
- 35.DMOCHOWSKI,L. et MARUYAMA,K. Immunological studies on leukemia and solid tumors of animals and man. In: Immunity and tolerance in oncogenesis.(L.Severi,edit.),Perugia,727-747.
- 36.DORE,J.F.,BERTOGLIO,J. et GUIBOUT,C. (1976) Les antigènes associés aux leucémies humaines. Bull.Cancer,63,353-370.
- 37.DORE,J.F.,GUIBOUT,C.,BERTOGLIO,J. et LIABEUF,A. (1976) Cytotoxic antibodies to human leukemia cells in normal human sera. Biomédecine,sous presse.
- 38.DORE,J.F. et KOURILSKY,F.M. (1974) Human leukemia associated antigens and immune reaction.p 59 in:Present problems in Haematology,(J.Libansky et L.Donner,edit.),Excerpta Medica.
- 39.DORE,J.F.,MARHOLEV,L.,AJURIA,E.,BELPOMME,D. et MATHE,G. (1970) Serological evidence for immune reaction to leukemia in man. Abstracts of the XIIIth Intern.Congr.Haemat.Munich,276.
- 40.DORE,J.F.,MOTTA,R.,MARHOLEV,L.,HRSAK,I.,COLAS DE LA NOUE,H., SEMAN,G. et MATHE,G. (1967) New antigens in human leukemic cells and antibodies in the serum of leukemic patients. Lancet,ii,1396-1398.

41. DURANTEZ, A., ZIGHELBOIM, J. et GALE, R.P. (1976) Leukemia associated antigens detected by heterologous antisera. *J. Natl. Cancer Inst.*, 56, 1217-1219.
42. DURANTEZ, A., ZIGHELBOIM, J., THIEME, T. et FAHEY, J.L. (1975) Antigens shared by leukemic blast cells and lymphoblastoid cell lines detected by lymphocyte dependant antibody. *Cancer Res.*, 35, 2693-2699.
43. EKERT, H., JOSE, D.G., WILSON, F.C., MATTHEWS, R.N. et LAY, H. (1975) Intermittent chemotherapy and immunotherapy with BCG in remission maintenance of children with acute lymphocytic leukemia: effects upon immunological function. *Int. J. Cancer*, 16, 103-112.
44. FAGIOLO, E. et BALDI, M. (1967) Anticorpi leucocitotossici in pazienti affetti da differenti tipi di leucemie. *Tumori*, 53, 581-590.
45. FIERE, D., BRYON, P.A., MARTIN, C., PEAUD, P.Y. et REVOL, L. (1976) Nouveau protocole thérapeutique de l'induction et de la remission de la leucémie myéloïde aiguë. *Lyon Med.*, 235, 483-488.
46. FINK, M.A., MALMGREN, R.A., RAUSCHER, F.J., ORR, H.C. et KARON, M. (1965) Application of immunofluorescence to the study of human leukemia. *J. Natl. Cancer Inst.*, 33, 581-588.
47. FINK, M.A., KARON, M., RAUSCHER, F.J., MALMGREN, R.A. et ORR, H.C. (1965) Further observations on the immunofluorescence of cells in human leukemia. *Cancer*, 18, 1317-1321.
48. FOLEY, F.J. (1953) Antigenic properties of methylcholanthrene induced tumors in mice of the strain of origin. *Cancer Res.*, 13, 835-837.
49. FRIDMAN, W.H. et KOURILSKY, F.M. (1969) Stimulation of lymphocytes by autologous leukemic cells in acute leukemia. *Nature*, 224, 277.
50. FU, S.M., WINCHESTER, R.J. et KUNKEL, H.G. (1975) The occurrence of HL-B alloantigens on cells of unclassified acute lymphoblastic leukemias. *J. Exp. Med.*, 142, 1334-1338.
51. GALLAGHER, R.E. et GALLO, R.C. (1975) Type C RNA tumor virus isolated from cultured human acute myelogenous leukemia cells. *Science*, 187, 350-353.
52. GARB, S., STEIN, A.A. et SIMS, G. (1962) The production of anti-human leukemic serum in rabbits. *J. Immunol.*, 88, 142-152.
53. GREAVES, M.F., BROWN, G., RAPSON, N.T. et LISTER, T.A. (1975) Antisera to acute lymphoblastic leukemia cells. *Clin. Immunol. Immunopath.*, 4, 67-85.
54. GREENSPAN, I., BROWN, E.R. et SCHWARTZ, S.O. (1963) Immunologically specific antigens in leukemic tissues. *Blood*, 21, 717-728.

55. GREENSPAN, I. et SCHWARTZ, S.O. (1961) Demonstration of specific antibody reaction to leukemic tissue extracts. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, 3, 230.
56. GUIBOUT, C. et DORE, J.F. Definition serologique d'un antigène associé aux leucémies aiguës lymphoblastiques. En préparation.
57. GUNZ, F.W., GUNZ, J.P., VEALE, A.M., CHAPMAN, C.J. et HOUSTON, I.B. (1975) Familial leukemia: A study of 909 families. *Scand. J. Haematol.*, 15, 117-131.
58. GUTTERMAN, J.U., ROSSEN, R.D., BUTLER, W.T., MACCREDIE, K.B., BODEY, G.P., FREIREICH, E.J. et HERSH, E.M. (1973) Immunoglobulin on tumor cells and tumor induced lymphocyte blastogenesis in human acute leukemia. *New Engl. J. Med.*, 288, 169-175.
59. HALTERMAN, R.H., LEVENTHAL, B.G. et MANN, D.L. (1972) An acute leukemia antigen: Correlation with clinical status. *New Engl. J. Med.*, 287, 1272-1274.
60. HANN, H.W., LONDON, W.T., SUTNICK, A.I., BLUMBERG, B.L., LUSTBADER, E. CARIM, H.M., EVANS, A.E., KAY, H.E. et MacLENNAN, I.C. (1975) Studies of parents of children with acute leukemia. *J. Natl. Cancer Inst.*, 54, 1299-1305.
61. HARRIS, R. (1973) Leukemia antigens and immunity in man. *Nature (Lond.)*, 241, 95-100.
62. HARRIS, R., VIZA, D., TODD, R., PHILLIPS, J., SUGAR, R., JENNISON, R.F. MARRIOTT, G. et GLEESON, M.H. (1971) Detection of human leukemia associated antigens in leukemic serum and normal embryos. *Nature (Lond.)*, 233, 556-557.
63. HEKMAN, A. et MELIS, M.G. (1975) Increased expression of a normal lymphocyte membrane antigen on chronic lymphatic leukaemia cells. *Cancer Res.*, 35, 3656-3662.
64. HERBERMAN, R.B. et NAM, J.M. (1971) Cytotoxic antibody reactive with culture of lymphoid cells: occurrence in disease and normal human sera. *J. Natl. Cancer Inst.*, 47, 489-494.
65. HUEBNER, R.J. et TODARO, G.J. (1969) Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 64, 1087-1094.
66. JOSE, D.G. et COLEBATCH, J.H. (1974) High avidity antibody in long term survivors of acute leukemia. *Lancet*, ii, 835.
67. JOSE, D.G. et SESHADI, R. (1974) Circulating immune complexes in human neuroblastoma: direct assay and role in blocking specific cellular immunity. *Int. J. Cancer*, 13, 824-838.
68. KARB, K. et GOLDSTEIN, G. (1971) Combination autoradiography and membrane fluorescence in studying cell cycle transplantation antigen relationships. *Transplantation*, 11, 569-572.
69. KILLMANN, S.A. (1957) Leukocyte auto-agglutinin in a case of acute monocytic leukaemia. *Acta haemat. (Basel)*, 17, 360-374.

70. KIM, B.S., ZEELON, P.E. et SPIEGELMAN, S. (1974) Immunological cross reaction between a major protein of the Mason-Pfizer virus and a protein in human myelogenous leukemic cells. (Abstract) Blood, 44, 931.
71. KLEIN, G., STEINER, M., WIENER, F. et KLEIN, E. (1974) Human leukemia associated anti-nuclear reactivity. Proc. Nat. Acad. Sci., 71, 685-689.
72. KOLLMORGEN, G.M., BUNDREN, J.C., CAIN, W.A. et CARUBELLI, R. (1972) Antigenic alteration of lymphoblastic leukemic cells induced by cell culture and hydrocortisone. Cancer Res., 32, 1900-1904.
73. KORNGOLD, L., VAN LEEUWEN, G. et MILLER, D.G. (1961) The antigens of human leukocytes: the specificity of leukocyte antigens. J. Natl. Cancer Inst., 26, 557-567.
74. KOURILSKY, F.M., DAUSSET, J. et BERNARD, J. (1968) A qualitative study of normal leukocyte antigens of human leukemic leukoblasts. Cancer (Philad.), 28, 372.
75. KOURILSKY, F.M., DAUSSET, J., PAVIE-FISHER, J. et FRIDMAN, W.H. (1970) Membrane antigens of human leukaemic leukoblasts. In: Immunity and tolerance in oncogenesis. (L. Severi, edit.) Perugia, 261-271.
76. KOURILSKY, F.M., SILVESTRE, D., NEAUPOUR-SAUTES, C., LOOSFELT, C. et DAUSSET, J. (1972) Antibody induced redistribution of HL-A antigens at the cell surface. Europ. J. Immunol., 2, 249-257.
77. LE BORGNE DE KAOUEL, C., BILLARDON, C., DORE, J.F., SILVESTRE, D., MARHOLEV, L., NGUYEN VAN CONG, WEIL, D., PICARD, J.Y., REBOURCET, R. et FREZAL, J. (1973) Hybridization of a human lymphoid leukemia permanent cell line with mouse fibroblast cells. Biomedecine, 18, 59-69.
78. LEVENTHAL, B.G., HALTERMAN, R.H. et HERBERMAN, R.B. (1971) In vitro and in vivo immunologic reactivity against autochthonous leukemia cells. Proc. Amer. Ass. Cancer Res., 12, 51.
79. LEVENTHAL, B.G., HALTERMAN, R.H., ROSENBERG, E.B. et HERBERMAN, R.B. (1972) Immune reactivity of leukemia patients to autologous blasts. Cancer Res., 32, 1820-1828.
80. LEVINE, P.H., HERBERMAN, R.B., ROSENBERG, E.B., MCCLURE, P.D., ROLAND, A., PIANTA, R.J. et TING, R.C. (1972) Acute leukemia in identical twins: search for viral and leukemia associated antigens. J. Natl. Cancer Inst., 49, 943-949.
81. LIBANSKY, J., CHUDOMEL, V., JEZKOVA, Z. et KOUT, M. (1958) The clinical significance of leukocyte antibodies. Proc. 7th Intern. Congr. Haemat., Roma, 1-9.
82. MANN, D.L., LEVENTHAL, B.G. et HALTERMAN, R.H. (1975) Human antisera detecting leukemia associated antigens on autochthonous tumor cells. J. Natl. Cancer Inst., 54, 345-347.

83. MANN, D.L., ABELSON, L., HARRIS, S. et AMOS, D.B. (1975) Detection of antigens specific for B lymphoid cultured cell lines with human alloantisera. *J.Exp.Med.*, 142, 84-89.
84. MANN, D.L., HALTERMAN, R.H. et LEVENTHAL, B.G. (1973) Cross reactive antigens on human cells infected with Rauscher leukemia virus and human acute leukaemia cells. *Proc.Nat.Acad.Sci.*, 70, 495-497.
85. MANN, D.L., ROSENTINE, G.N. et HERBERMAN, R.B. (1971) Detection of an antigen associated with acute leukaemia. *Science*, 174, 1136-1137.
86. MANN, D.L., ABELSON, L., HENKART, P., HARRIS, S. et AMOS, D.B. (1975) Specific human B lymphocyte alloantigens linked to HL-A. *Proc.Nat.Acad.Sci.*, 72, 5103-5106.
87. MANN, D.L., HALTERMAN, R.H. et LEVENTHAL, B.G. (1974) Acute leukemia associated antigens. *Cancer*, 34, 1446-1451.
88. MARUYAMA, K., DMOCHOWSKI, L., BOWEN, J.M. et HALES, R.L. (1968) Studies of human leukaemia and lymphoma cells by membrane immunofluorescence and mixed hemadsorption tests. *Tex.Rep. Biol.Med.*, 26, 545-565.
89. MATHE, G. (1971) Active immunotherapy. *Advanc.Cancer Res.*, 14, 1-36.
90. MATHE, G., AMIEL, J.L., SCHWARTZENBERG, L., SCHNEIDER, M., CATTAN, A., SCHLUMBERGER, J.R., HAYAT, M. et DE VASSAL, F. (1969) Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, i, 697-699.
91. METZGAR, R.S., MOHANAKUMAR, T. et BOLOGNESI, D.P. (1976) Relationships between membrane antigens of human leukaemic cells and oncogenic RNA virus structural components. *J.Exp.Med.*, 143, 47-63.
92. METZGAR, R.S., MOHANAKUMAR, T. et BOLOGNESI, D.P. (1976) Antigenic relationships between murine, feline and primate RNA tumor viruses and membrane antigens of human leukaemic cells. *Comp.Leuk.Res., Bibl.Haemat. (Basel)*, 43, 549-554.
93. METZGAR, R.S., MOHANAKUMAR, T. et MILLER, D.S. (1972) Antigens specific for human lymphocytic and myeloid leukemia cells: detection by non-human primate antiserum. *Science*, 178, 986-988.
94. METZGAR, R.S., MOHANAKUMAR, T. et MILLER, D.S. (1975) Membrane bound immunoglobulins on human leukemic cells. Evidence for tumoral immune responses of patients to leukemia associated antigens. *J.Clin.Invest.*, 56, 331-338.
95. MILLS, B., SEN, L. et BORELLA, L. (1975) Reactivity of anti-human thymocytes serum with acute leukemic blasts. *J.Immunol.*, 115, 1038-1044.

96. MITCHELL, M.S., MOKYR, M.B., ASPNES, G.T. et MCINTOSH, S. (1973) Cytophilic antibodies in man. *Ann. Inter. Med.*, 79, 333-339.
97. MITTAL, K.K., MICKEY, R.R., SINGAL, D.P. et TERASAKI, P.I. (1968) Refinement of microdroplet lymphocyte cytotoxicity test. *Transplantation*, 6, 913.
98. MOHANAKUMAR, T., METZGAR, R.S. et MILLER, S. (1974) Human leukemia cell antigens: serologic characterization with xenoantisera. *J. Natl. Cancer Inst.*, 52, 1435-1444.
99. MOHANAKUMAR, T., MILLER, D.S. et METZGAR, R.S. (1976) Human acute myelomonocytic leukemia : serologic studies with simian antisera. *Blood*, 48, 339-350.
100. MOHANAKUMAR, T., METZGAR, R.S. et MILLER, D.S. (1976) Antigenic markers for human leukemia and lymphoma cells: detection with simian antisera. *Comp. Leuk. Res., Bibl. Haemat. (Basel)*, 43, 24-28.
101. MOHANAKUMAR, T., PAULY, J.L., SOKAL, J.E. et METZGAR, R.S. (1975) Human leukemia associated antigens. Detection on cells of established lymphoblastoid lines. *J. Immunol.*, 115, 1542-1549.
102. MOTTA, R. (1971) Passive immunotherapy of leukaemia and other cancer. *Advanc. Cancer Res.*, 14, 161-179.
103. MOUTTE, A., DORE, J.F. et GUIBOUT, C. Elution d'immunoglobulines de cellules leucémiques humaines. En préparation.
104. NGU, V.A. (1967) Host defenses to Burkitt tumour. *Brit. Med. Journal*, 1, 345-347.
105. OLD, L.J., STOCKERT, E., BOYSE, E.A. et KIM, J.M. (1968) Loss of TL antigens from cells exposed to TL antibody. Study of the phenomenon in vitro. *J. Exp. Med.*, 127, 523-539.
106. OREN, M.E. et HERBERMAN, R.B. (1971) Delayed cutaneous hypersensitivity reaction to membrane extracts of human tumor cells. *Clin. Exp. Immunol.*, 9, 45-51.
107. PAVIE-FISCHER, J., KOURILSKY, F.M., PICARD, F., BANZET, P. et PUISSANT, A. (1975) Cytotoxicity of lymphocytes from healthy subjects and melanoma patients against cultured melanoma cells. *Clin. Exp. Immunol.*, 21, 430-441.
108. PEACOCKE, I., AMOS, B.D. et LASZLO, J. (1966) The detection of iso-antigens on leukemic cells using the cytotoxicity test. *Blood*, 28, 665-673.
109. PEGRUM, G.D. (1973) Leukaemic antigens. *Brit. J. Haemat.*, 24, 1-6.
110. PENDERGRASS, T.W., STOLLER, R.G., MANN, D.L., HALTERMAN, R.H. et FRAUMENI, J.F. (1975) Acute myelocytic leukemia and leukemia associated antigens in sisters. *Lancet*, ii, 429-431.

111. PETER, H.H., KALDEN, J.R., SEELAND, P., DIEHL, V. et ECKERT, G. (1975) Humoral and cellular immune reactions in vitro against allogenic and autologous human melanoma cells. *Clin. Exp. Immunol.*, 20, 193-207.
112. PHAN, D.T., PETRANYI, G.G. et HOLLAN, S.R. (1974) Presence of chronic lymphoid leukemia antigen in other malignant haematological diseases. *Vox Sang.*, 26, 141-146.
113. PIESSENS, W.F. et MOLONEY, W.C. (1976) Immunological aspects of acute leukemia in man. *Europ. J. Cancer*, 12, 511-518.
114. POWLES, R.L., BALCHIN, L.A., HAMILTON FAIRLEY, G. et ALEXANDER, P. (1971) Recognition of leukaemia cells as foreign before and after autoimmunization. *Brit. Med. Journal*, 1, 486-497.
115. PREHN, R.T. et MAIN, J.M. (1957) Immunity to methylcholanthrene induced sarcomas. *J. Natl. Cancer Inst.*, 18, 769-778.
116. PREVOST, J.M. (1976) Oncogenic viruses: implications for human diseases. *Europ. J. Cancer*, 12, 499-510.
117. RAMACHANDAR, K., BAKER, M.A. et TAUB, R.N. (1975) Antibody responses to leukemia associated antigens during immunotherapy of chronic myelocytic leukemia. *Blood*, 46, 345-355.
118. ROSENFELD, C., GOUTNER, A., VENUAT, A.M., CHOQUET, J., PICO, J.L., DORE, J.F., LIABEU, A., DURANDY, A., DESGRANGES, C. et DE THE, G. (1976) A human leukaemic cell line lacking Epstein Barr virus determined nuclear antigen. *Europ. J. Cancer Monogr.*, sous presse.
119. ROSENFELD, C., DORE, J.F., CHOQUET, J., VENUAT, A.M., AJURIA, E., MARHOLEV, L. et WASTIAUX, J.P. (1973) Variations in expression of cell membrane antigens by cultured cells. *Transplantation*, 16, 279-286.
120. ROSENFELD, C., MACIEIRA COELHO, A., VENUAT, A.M., JASMIN, C. et TUAN, T.Q. (1969) Kinetics of the establishment of human peripheral blood cultures. *J. Natl. Cancer Inst.*, 43, 581-595.
121. RUSSEL, A.R. et POPE, J.H. (1976) Reactivity of antibody in acute myeloid leukaemia with proliferation-associated antigens. *Clin. Exp. Immunol.*, 23, 83-90.
122. SACKS, K.L., OLWENY, C., MANN, D.L., SIMON, R., JOHNSON, G.E., POPLACK, D.G. et LEVENTHAL, B.G. (1975) A clinical trial of chemotherapy and RAJI immunotherapy in advanced acute lymphatic leukemia. *Cancer Res.*, 35, 3715-3720.
123. SAMOILOVA, R.S., BULICHEVA, T.I. et SKURKOVICH, S.V. (1975) Immunoglobulins on the surface of blast cells in human acute leukaemia. *Blood*, 46, 443-451.
124. SARIN, P.S., ANDERSON, P.N. et GALLO, R.C. (1976) Terminal deoxynucleotidyl transferase activities in human blood leukocytes and lymphoblast cell lines: high levels in lymphoblast cell lines and in blast cells of some patients with chronic myelogenous leukemia in acute phase. *Blood*, 47, 11-20.

125. SCHLOSSMAN, S.F., CHESS, L., HUMPHREYS, R.E. et STROMINGER, J.L. (1976) Distribution of Ia-like molecules on the surface of normal and leukemic human cells. *Pro.Nat.Acad.Sci.USA.*, 73, 1288-1292.
126. SCHWARTZ, S.O., GREENSPAN, I. et BROWN, E.R. (1963) Leukemia clusters in Niles: immunological data on families of leukemic patients and others. *J.A.M.A.*, 186, 106-108.
127. SEKLA, B., HOLECKOVA, E., JANELE, J., LIBANSKY, J. et HNEVKOSKY, O. (1967) The effects of heterologous immune globulins upon human cancer in vivo. *Neoplasma*, 14, 641-647.
128. SELIGMANN, M., GRABAR, R. et BERNARD, J. (1954) Presence d'anticorps précipitants antileucocytaires dans le serum de sujets atteints de leucose aiguë. *Presse Med.*, 62, 1700-1702.
129. SELIGMANN, M., GRABAR, R. et BERNARD, J. (1955) Etudes sur la constitution antigénique des leucocytes normaux et leucémiques par les méthodes de précipitation spécifique en milieu gélifié. *Sang*, 26, 52-70.
130. SJOGREN, H.O. (1961) Further studies on the induced resistance against isotransplantation of polyoma tumours. *Virology*, 15, 214-219.
131. STEINER, M., KLEIN, E. et KLEIN, G. (1976) Antinuclear reactivity of sera in patients with leukaemia and other neoplastic diseases. *Clin.Immunol.Immunopath.*, 4, 374-381.
132. STUHL MILLER, G.M., MOHANAKUMAR, T., METZGAR, R.S. et SEIGLER, H.F. (1976) The use of non human primates for production of antisera to human tumor associated antigens. *J.Immunol.Methods*, 12, 267-274.
133. TAYLOR, R.B., DUFFUS, W.P., RAFF, M.C. et DE PETRIS, S. (1971) Redistribution and pinocytosis of lymphocyte surface immunoglobulin molecules induced by anti-immunoglobulin antibody. *Nature(New Biol.)*, 233, 225-229.
134. TEMIN, H.M. (1971) The provirus hypothesis: speculations on the significance of RNA-directed DNA synthesis for normal development and carcinogenesis. *J.Natl.Cancer Inst.*, 46, 3-7.
135. TING, C.C., LAVRIN, D.H., SHIU, G. et HERBERMAN, R.B. (1972) Expression of foetal antigens in tumor cells. *Proc.Nat Acad.Sci.USA.*, 69, 1664-1669.
136. TRUJILLO, J.M., BUTLER, J.J., AHEARN, M.J., SHULLENBERGER, C.C., LIST-YOUNG, B., GOTT, C., ANSTALL, H.B. et SHIVELY, J.A. (1967) Long term culture of lymph node tissue from a patient with lymphocytic lymphoma. II. Preliminary ultrastructural, immunofluorescence and cytogenetic studies. *Cancer*, 20, 215-224.
137. VIZA, D.C. Résultats non publiés.

138. VIZA, D.C., DAVIES, D.A.L. et HARRIS, R. (1970) Solubilization and partial purification of human leukaemic specific antigens. *Nature*, 227, 1249-1251.
139. VIZA, D.C., DAVIES, D.A.L., TODD, R., BERNARD-DEGANI, O., BERNARD, C. et HARRIS, R. (1970) Mise en évidence, isolement et purification partielle d'antigènes leucémiques chez l'homme. *Presse Med.*, 78, 2259-2264.
140. WALFORD, R.L., GOSSET, T., SMITH, G.S., ZELLER, E. et WILKINSON, J. (1975) A new alloantigenic system on human lymphocytes. *Tissue Antigens*, 5, 196-204.
141. WALFORD, R.L., WATERS, H., SMITH, G.S. et STURGEON, P. (1973) Anomalous reactivity of certain HL-A typing sera with leukemic lymphocytes. *Tissue Antigens*, 3, 222-234.
142. WHITSON, M.E., LOZZIO, C.B., LOZZIO, B.B., WUST, J., SONODA, T. et AVERY, B. (1976) Cytotoxicity of antisera to a myelogenous leukemia cell line with the Philadelphia chromosome. *J. Natl. Cancer Inst.*, 56, 903-907.
143. WONG-STAAAL, F., GILLEPSIE, D. et GALLO, R.C. (1976) Proviral sequences of baboon endogenous type C-RNA virus in DNA of human leukemic tissues. *Nature*, 262, 190-195.
144. YATA, J. et KLEIN, G. (1969) Some factors affecting membrane immunofluorescence reactivity of Burkitt lymphoma tissue culture cell lines. *Int. J. Cancer*, 4, 767-775.
145. YATA, J., KLEIN, G., KOBAYASHI, N., FURUYAMA, T. et YANAGISAWA, M. Human thymus lymphoid tissue antigen and its presence in leukemia and lymphoma. *Clin. Exp. Immunol.*, 7, 781-792. (1970).
146. YOSHIDA, T.O. et IMAI, K. (1970) Auto-antibody to human leukemic cell membrane as detected by immune adherence. *Rev. Europ. Et. Clin. Biol.*, 15, 62-65.
147. ZILBER, L.A. (1957) Studies on tumor antigens. *J. Natl. Cancer Inst.*, 18, 341-358.

